

TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI

FAKULTA TEXTILNÍ

KATEDRA NETKANÝCH TEXTILIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Příprava nanovláknenných vrstev na bázi dextranu

Preparation of nanofibrous layers based on dextran

Autor:

JAN KOPEČEK

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. LENKA MARTINOVÁ, CSc.

LIBEREC 2011

Zadání práce

PROHLÁŠENÍ

Čestně prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury. Veškeré zdroje jsem citoval ve správném znění a v plném rozsahu. Dále souhlas s umístěním práce ve studovně TUL.

V Liberci, 26. dubna 2011

.....
Jan Kopeček

Vysoká nad Labem 209

503 31 Vysoká nad Labem

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji především své vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Lence Martinové, CSc. za příkladné vedení, odborné rady a doporučení literatury k danému tématu. Děkuji též laboratorní expertce Ing. Denise Zálešákové za profesionální instruktáž a snímání vzorků na SEM ve vědeckých laboratořích FT TUL.

ABSTRAKT

Teoretická část této bakalářské práce se zabývá unikátním biokompatibilním polysacharidem dextranem - přípravou, vlastnostmi a využitím. Práce je zaměřena na zjištění fyzikálních a chemických vlastností klinického dextranu 70, které jsou klíčové pro elektrostatické zvlákňování z polymerního roztoku metodou Nanospider. Experimentální část se soustřeďuje na přípravu nanovláknenné vrstvy na bázi dextranu, optimalizaci vlastností roztoku pro elektrostatické zvlákňování a nalezení vhodného síťovacího činidla pro stabilizaci nanovláknenné vrstvy proti rozpouštění.

ABSTRACT

The theoretical part of this thesis consists of a unique biocompatible polysaccharide dextran - preparation, properties and uses. The work focuses on discovering physical and chemical properties of clinical dextran 70 which are crucial for the electrospinning of polymer solution using method Nanospider. The experimental part focuses on the production of dextran nanofibrous layers, optimizing the properties of solution for electrostatic electrospinning and finding a cross-linking reagent for the stabilization dextran's nanofiber layers against dissolution.

KLÍČOVÁ SLOVA

polysacharid, dextran, nanotechnologie, nanovláknna, síťování

KEY WORDS

polysacchide, dextran, nanotechnology, nanofibrous, cross - linking

OBSAH

1 ÚVOD	9
2 TEORETICKÁ ČÁST	10
2.1 Polysacharidy	10
2.1.1 Základní charakteristika	10
2.1.2 Rozdělení polysacharidů	11
2.2 Dextran	13
2.2.1 Vlastnosti dextranu	13
2.2.2 Příprava dextranu	13
2.2.3 Molekulová struktura dextranu	14
2.2.4 Odbourávání dextranu	16
2.2.5 Aplikace dextranu	16
2.3 Sít'ování polysacharidů	17
2.3.1 Princip a metody sít'ování	17
2.4 Nanotechnologie	21
2.4.1 Nanovlákná	21
2.4.2 Elektrostatické zvlákňování polymerů	22
2.4.3 Metody elektrostatického zvlákňování	22
2.4.4 Charakterizace nanovláknenných vrstev	24
Shrnutí teoretické části BP a předpoklady pro experimentální část	24
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	25
3.1 Příprava nanovláknenných vrstev na bázi dextranu	26
3.1.1 Rozpustnost dextranu	26
3.1.2 Ovlivnění povrchového napětí roztoku	30
3.1.3 Aplikace elektrostatického zvlákňování z plochy	31
3.1.3.1 Vodné roztoky dextranu	32
3.1.3.2 Polymerní směsi a roztoky organických rozpouštědel s dextranem	36
3.2 Sít'ování nanovláknenné vrstvy dextranu	43
3.2.1 Metody sít'ování vláken a nanovláknenných vrstev dextranu	43

4 DISKUSE	45
5 ZÁVĚR	48
6 POUŽITÁ LITERATURA	49

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

BP	bakalářská práce
cP	poise, jednotka toku viskozity s předponou centi- (10^{-2}) $1 \text{ P} = 1 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} = 0,1 \text{ Pa} \cdot \text{s}$
f	frekvence [ot./min]
„in vivo“	v živém organismu
kV	kilovolt
M_h	relativní molární hmotnost [g/mol]; jednotka látkového množství
ml	objemová jednotka; mililitr; $1 \cdot 10^{-3} \text{ l}$
nm	délková jednotka; nanometr; dle SI $1 \cdot 10^{-9} \text{ m}$
PAL	povrchově aktivní látka
Pa.s	jednotky toku viskozity dle SI; $1 \text{ Pa} \cdot \text{s} = 1 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} = 10 \text{ P}$
pH	kyselost (též vodíkový exponent z anglického „ <i>potential of hydrogen</i> “)
SEM	skenovací elektronový mikroskop
SI	oficiální soustava fyzikálních veličin
T_f	teplota tečení polymerů
UV	ultrafialové světlo
3D	struktura v třech dimenzích $a \cdot b \cdot c$
σ	sigma; povrchové napětí [10^{-3} N/m]
Σ	suma
μm	délková jednotka; mikrometr, dle SI $1 \cdot 10^{-6} \text{ m}$
% hm.	hmotnostní procenta v roztoku

1 ÚVOD

Katedra netkaných textilií TUL se zaměřuje na inovaci funkčních textilií a nové polymerní materiály využitelné v oblasti nanotechnologie. Každý den se ve světě publikují nové články o úspěšném testování 3D nanoskeletů v orgánovém inženýrství či objevení léčebného přípravku na dosud neléčitelné choroby. Obrovský ekonomický potenciál se nachází v materiálovém inženýrství pro medicínu a farmacii. Vědci z celého světa objevují možnosti nanotechnologie jako nového způsobu pro dopravu léčebného preparátu přímo k postiženému místu či tkáni. Díky nejnovějším technologiím není problém vytvořit kompatibilní biodegradabilní materiál na míru potřeby. Přesnost dávkování léku „in vivo“ pomocí nanonosičů je ve stádiu výzkumu, ovšem svojí účinností několikanásobně předčí běžně podávaný lék. V minulosti bylo dokázáno, že lidské tělo nejlépe přijímá přírodní látky obsažené, rychle stravitelné a přirozeně odbouratelné v organismu. Jednou z těchto substancí je i klinický Dextran 70, který je tématem této bakalářské práce. Tento netoxický biopolymer se stal jedním z prvních polysacharidů vyráběných velkotonážně pro průmysl. Díky skvělé biokompabilitě a vynikající schopnosti vázat vodu, dextran nachází své uplatnění v nejmodernějších technologiích. Dextran se používá v mnoha odvětvích lidské činnosti již dnes. V případě úspěšného elektrostatického zvláknění a tvorby nanovláknenné vrstvy odolné proti rozpustnosti nalezne dextran řadu nových uplatnění. Nejzajímavějším popsáním využitím je pravděpodobně možnost použít tento unikátní biopolymer ve funkci nosného materiálu pro tkáňové inženýrství. Dextran se nabízí jako farmaceuticky zajímavý polymer pro nové možnosti biomedicíny i mikrobiologického průmyslu, kde již uspěly v minulosti jiné polymerní biomateriály, nevyjímaje polysacharidy.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Polysacharidy

2.1.1 Základní charakteristika

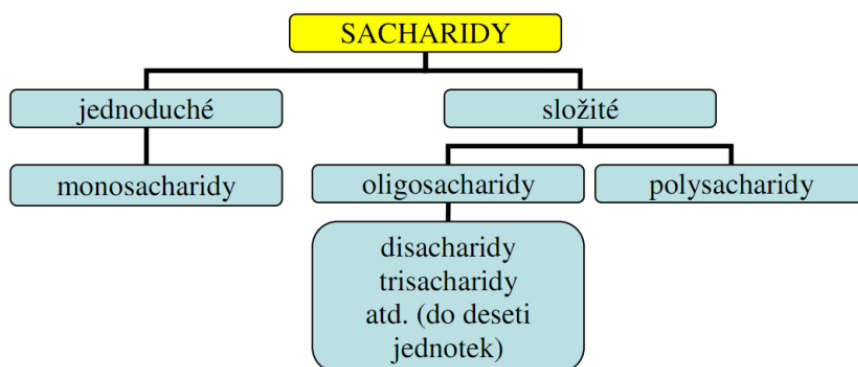
Monosacharidy jsou stavební jednotkou polysacharidů. Grafické schéma dělení sacharidů je zobrazeno na obr. 1. Důležitý sacharid D-glukóza byla v roce 1742 poprvé získána extrakcí z rozinek, 1792 z medu, z hroznového vína roku 1802 a ze škrobu v roce 1811 pomocí hydrolýzy. Krystaly jsou bílé.

Sacharidy v případě sladké chuti a rozpustnosti ve vodě je nazýváme cukry. D-glukóza ($C_6H_{12}O_6$) je známa též jako dextróza neboli hroznový či krevní cukr [16].

Spojením dvou monosacharidů D-glukózy vzniká maltóza. Polysacharidy složené z opakující D-glukózy se nazývají glukany. Glukóza je základní zdroj energie pro živočichy, vzniká v rostlinách Calvinovým cyklem při fotosyntéze, kterou lze zaznamenat následující rovnicí:

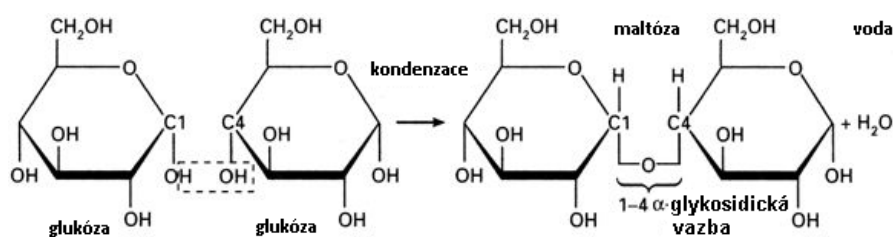


Glukóza je nezbytná pro funkci svalů, vnitřních orgánů a stabilizaci hladiny cukru v krvi. Hypoglykémie je onemocnění, při kterém je trvale snižena hodnota cukru. Opakem je cukrovka (Diabetes mellitus), kde v případě snížení hodnoty hormonu inzulinu dochází k nárůstu hladiny cukru v krvi.



Obr. 1 Schéma rozdělení sacharidů, převzato z [22]

Polysacharidy patří mezi základní energetické, zásobní a stavební jednotky živých organismů na této planetě a patří k nejvíce rozšířeným biologicky významným látkám. Dříve byly nazývány karbohydráty pro svůj sumární vzorec $C_n(H_2O)_{n-1}$. Skládají se z molekul desítek až tisíců jednoduchých cukrů, např. glukózy ($C_6H_{12}O_6$), ribulózy, fruktózy atd. Homopolysacharidy mají řetězec složený pouze z monosacharidů jednoho druhu, většinou si přidružují koncovku -an (dextran, chitosan, pullulan atd.), zatímco heteropolysacharidy obsahují více druhu monosacharidů (chitin, heparin, inulin atd.). Schéma na obr. 2 znázorňuje tvorbu molekulární vazby. Jednotky monosacharidů jsou spojeny glykosidickou vazbou, která tvoří vazbu mezi poloacetátovým hydroxylem jednoho monosacharidu a alkoholickým hydroxylem druhého monosacharidu vykondenzováním vody. Tvoří tak základ polysacharidu.



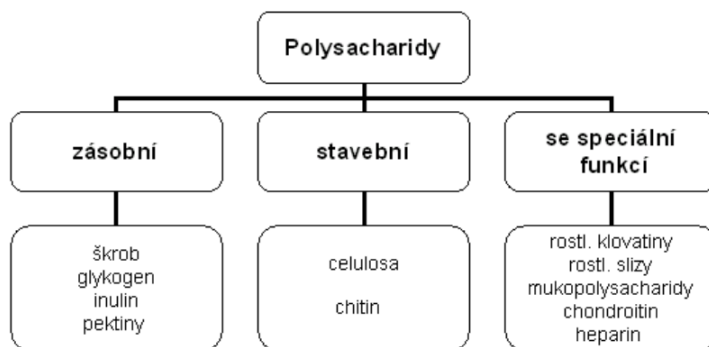
Obr. 2 Schéma tvorby glykosidické vazby dle [21]

Délkovým růstem monosacharidů vznikají oligosacharidy o velikosti 2 až 10 monosacharidických jednotek spojených v řetězec, až následně se tvoří polysacharidy s více než 10 jednotkami. V lidském těle se štěpí škroby na jednodušší cukr ve slinách a trávicím ústrojí pomocí enzymu α -amyláza. Tento enzym se tvoří ve slinivce břišní a slinných žlázách. Důsledkem hydrolytického štěpení škrobů je disacharid maltóza, který v těle plní funkci zdroje energie. Následně maltózu štěpí enzym maltáza na monosacharid glukózu.

2.1.2 Rozdělení polysacharidů

Dělení polysacharidů na schématu obr. 3 je podmíněno přímo jejich funkcí. Vedle zdroje a zásoby energie, jak je popsáno v článku [16], jsou polysacharidy využívány i

jako stavební jednotky organismů, stabilizátory krevního oběhu či mají funkci specifickou. Rozdělení polysacharidů je převzato z webových stránek [22].



Obr. 3 Schéma rozdělení polysacharidů dle [22]

Ze zásobních polysacharidů jsou nejdůležitější tyto:

- škrob (hlavní energetická zásobní látka rostlin; hydrolýzou vzniká glukóza)
- glykogen (hlavní energetická zásobní látka živočichů; enzymatickým štěpením v játrech vzniká krevní cukr)
- inulin (fruktan; energetický zdroj pro střevní bakteriální trávicí kulturu)
- pektin (zahušťovadlo želatin či marmelád)

Nejdůležitější stavební polysacharidy:

- celulóza (základní stavební jednotka rostlin; nejrozšířenější polysacharid na Zemi)
- chitin (stavební jednotka skeletu bezobratlých)

Vybrané speciální polysacharidy:

- rostlinné klovatiny (ochranná tekutina rostlin při zranění; např. pryskyřice)
- rostlinné slizy (plní funkci ochrany semen rostlin před vysycháním)
- chondroitin (nedílná součást pohybového aparátu, např. v chrupavkách; lék na artrózu – výroba extrakcí z vepřových nebo hovězích chrupavek)
- heparin (antikoagulant krve)

2.2 Dextran

2.2.1 Vlastnosti dextranu

Základní strukturu homopolysacharidu dextran tvoří většinu glukán α -(1→6) glukóza (kolem 95 %) s možným větvením. Délka postranních řetězců je 1-2 glukózy. Umístění vazby postranních řetězců se liší dle výrobní technologie a použité bakterie při mikrobiologické produkci. Rozvětvení je přibližně 5 % v objemu dextranu. Dextran je bílý prášek bez chuti a zápachu, který je rozpustný ve vodě, glycerinu, dimethylsulfoxidu (DMSO), etylenglykolu, formamidu (methanamid) a dalších rozpouštědlech. Nejvyšší rozpustnost vykazuje při pH 6-7, krajní hodnoty jsou při pH 4 a pH 10. Ve vodě je ideální doba rozpouštění přibližně 25 minut při teplotě 22 °C. Není rozpustný v jednoduchých alkoholech, např. methanolu, ethanolu, isopropanolu a také v ketonových tekutinách, např. acetonu či 2-propanonu. Tyto informace jsou dostupné přímo od dánského výrobce na webu [24] a také převzaty z internetové encyklopedie wikipedia.cz [25].

2.2.2 Příprava dextranu

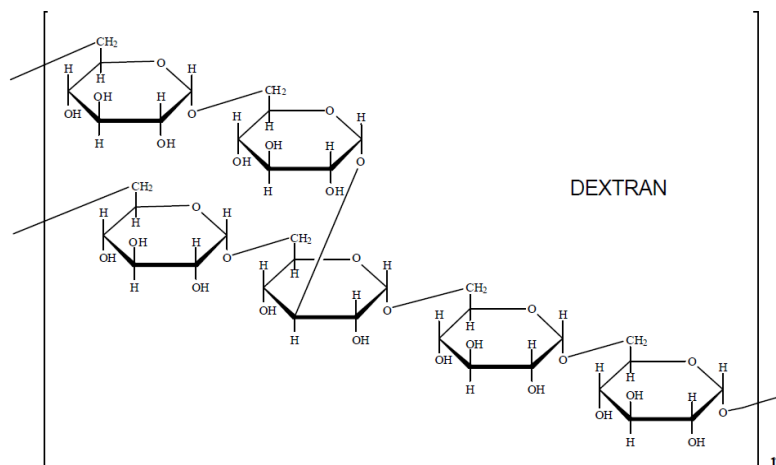
Autor Naessens, M. [6] zmapoval se svým týmem historický vývoj dextranu a popsal možnosti jeho výroby. První zmínky o dextranu jsou z roku 1861, kdy popsal Pasteur syntézu „nějakých“ bakterií ve víně. Tieghem bakterie pojmenoval *Leuconostoc mesenteroides*. Již v roce 1930 byla popsána první umělá syntéza dextranů ze sacharózy vědci Huckerem a Pedersonem.

Průmyslová produkce dextranu využívá života a růstu bakteriálních kolonií na médiu. „Po rozštěpení sacharózy dochází k vazbě glukózy do dextranového řetězce a uvolňuje se fruktóza, která je dále využívána.“, ze sylabu [23].

Používají se bakterie typu *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Acetobacterie* a další. Syntézou sacharózy se tvoří dextrany a vedlejším produktem této reakce je fruktóza. Nejčastěji používanou bakterií je *Leuconostoc mesenteroides*, která při vhodném nosném médiu vytváří vodou ředitelný α -(1→6) dextran větvený 5 % na α -(1→3), který je strukturně zobrazen na schématu obr. 4. Celý výrobní bakteriální proces popisuje Qader, S. A. U. v článku [3].

Mikrob *Streptococcus mutans* tvoří tento polysacharid jako lepidlo pro udržení bakterií na zubní sklovině a je součástí zubního plaku, kde následně bakterie vytvářejí kolonie a narušují svojí přítomností zubní sklovinu. Rozklad dextranu na jednodušší cukry se provádí enzymaticky pomocí dextranázy. Enzym dextranáza napadá vazebné body dextranu a štěpí řetězec na maltózu, což je disacharid tvořený dvěma glukózami. Dextran je odolný vůči enzymům amylázy, tudíž je živočichy nestravitelný, ovšem pro organismy nižšího řádu plní funkci zásobní. Plísně typu *Penicillium* a *Verticillium* či bakterie *Lactobacillus*, *Cellvibrio* a *Cytophaga* degradují dextran na nižší cukry právě pomocí enzymu dextranáza.

Tento enzym je průmyslově vyráběn k přirozené degradaci dextranu a jeho využití v potravinářském průmyslu je popsána v odborném textu [9].

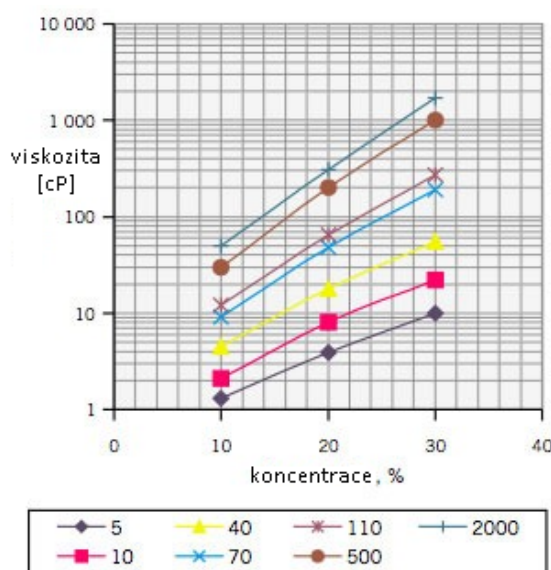


Obr. 4 Schéma molekulové struktury dextranu, převzato z [19]

2.2.3 Molekulová struktura dextranu

V knize Polymeric materials [2] se autor S. Dumitriu zabývá v jedné celé kapitole dextranům. Sumární vzorec dextranu je $C_6H_{12}O_5$. (pyranóza, forma uskupení uhlíků v šestičlenném kruhu a jedním kyslíkovým heteroatomem) Syntézou ze sacharidů jsou vyráběny polysacharidy dextransy o molekulové hmotnosti 1 000 - 2 000 000 g/mol. Molekulová hmotnost samostatného monomeru je 162.14 g/mol. Ve farmacii je používáný dextran nejčastěji v rozmezí $M_h = 10\,000 - 150\,000$ g/mol.

Různé molekulové hmotnosti a distribuce ovlivňují vlastnosti dextranu, např. koloidní osmotický tlak, viskozitu, povrchovou adsorpci. Dextran má schopnost vázat vodu v poměru 1 : 20. Vodný roztok dextranu se vykazuje newtonovským chováním, tedy viskozita je nezávislá na smykovém napětí. Koncentrace solí ani změna pH výrazně neovlivňují viskozitu. S rostoucí molekulovou hmotností roste viskozita dextranových roztoků, poněvadž molekulové řetězce jsou delší, tudíž mají větší odpor vůči toku v roztoku. Závislost koncentrace dextranu na viskozitě je zobrazena grafu obr. 5 níže.



Obr. 5 Graf závislosti viskozity na koncentraci dextranu v roztoku dle [24].
Znázorněny různé molekulové hmotnosti (tis.) při 25°C.

Specifická optická rotace dextranu je $[\alpha]_D = +195 - +201$ (při 25 °C), kde $[\alpha]$ je specifická optická rotace měřená v linii sodíku D. Hranice ustálení optické rotace je 20 000 g/mol molekulové hmotnosti. Dextran s molekulovou hmotností pod 20 000 g/mol získává nižší hodnotu optické rotace popsanou výrobcem na webu [24].

2.2.4 Odbourávání dextranu

Cukerné polysacharidy, nevyjímaje dextran, jsou v přírodě biodegradabilně odbouratelné. Jejich rozpustnost ve vodním prostředí je dána polaritou. Dextrany se štěpí enzymaticky dextranázou na jednodušší cukry, které jednobuněčné živé organismy využívají pro zdroj energie či zásobní látky.

2.2.5 Aplikace dextranu

Dextran má velice široké spektrum využití. Technický dextran se používá ve chromatografickém průmyslu, lepidlech a pro stabilizaci vrstev kovu před oxidací. Klinický dextran se díky své skvělé biokompatibilitě a výbornému vázání vody aplikuje v medicíně, farmacii a kosmetice, jak uvádí níže uvedený seznam konkrétních aplikací:

- náhrady krevní plazmy [24], [15]
- krevní infúze a konzervy, kde výrazně snižuje riziko embolie [24]
- přípravky na prokapávání očí při poruše slzných kanálků [24]
- roztok pro kryokonzervaci krve a ukládání orgánů k transplantaci [24]
- nitrožilní agent pro zvýšení cukru v krevním oběhu [24]
- „in vivo“ nosič léků [13,14]
- médium pro buněčný růst [1]
- zdravotnické přípravky a léky [24]
- sladidla v potravinářském průmyslu [9]
- náhrady za vlákninu k čištění trávicích orgánů [20]
- aditivum v kosmetických přípravcích [25]
- hydrogely v gelové chromatografii [19]
- ochranný prvek kovových povrchů [25]
- lepidla kostí [17]
- prostředek pro zlepšení kvality vyvolávaných snímků ve fotografickém průmyslu [24]

Použití dextranu v náhradách plazmy je detailně popsáno v internetovém článku [15]. Tento biodegradabilní polymer je organismy dobře snášen. Používá se nejčastěji jako náhrada krevní plazmy pro stabilizaci koloidně-osmotického tlaku (6 % roztok dextranu v izotonickém roztoku chloridu sodného). Lze jej aplikovat v roztoku orálně či nitrožilně. Z těla se bezproblémově vyplavuje urinou (kolem 50 % do 24 hodin, 30 % během prvních tří hodin). Malé množství se vylučuje stolicí. Stopové množství může být zadržováno v metabolickém systému, ovšem dosud to nebylo potvrzeno. Dextran s molekulovou hmotností vyšší než 50 000 g/mol se vstřebává přes kapilární stěny a je štěpen dextranázami na menší řetězce, až samostatnou glukózu (obsah dextranázy v lidském těle pro štěpení dextranu je přibližně 70 - 90 mg/kg tělesné hmotnosti). Dospělý člověk s hmotností 70 kg metabolizuje průměrně 5 g dextranu za 24 hodin. Mezi možné vedlejší účinky patří např. dysfunkce krevních destiček, edém mozku a plic (otok, který je zapříčiněným velkým množstvím vody v mozkové tkáni nebo plicích) či akutní selhání ledvin. Při aplikaci dextranu je třeba dbát na zdravotní stav pacienta. Nejvíce jsou ohroženi pacienti chorobami krevního oběhu a ledvin. Málo zavodněný jedinec může být ohrožen tkáňovou dehydratací díky vázání molekul tělních tekutin na dextran v oběhu krve. Tato komplikace vyvolává oběhové přetížení organismu. Přípravek je vhodný pro jedince od 2 let, těhotným a kojícím ženám je podáván pouze za nevyhnutelných okolností.

2.3 Síťování polysacharidů

2.3.1 Princip a metody síťování

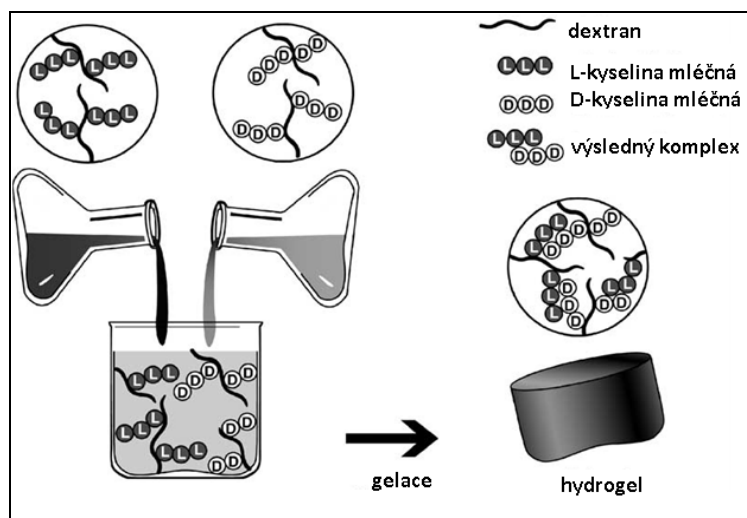
Celou tuto problematiku stabilizace polysacharidů popsali ve své práci Patil S. a Jade D.R. [4]. Síťování nanovlákených vrstev připravených z vodných roztoků je nezbytný krok pro následnou aplikaci z důvodu zamezování jejich rozpustnosti. Polysacharidy rozpustné ve vodě jsou síťovány na hydroxylových skupinách. V chromatografickém průmyslu se používá k separaci zesíťovaný technický dextran s obchodním názvem Sephadex (*separation pharmacía dextran*), kde více informací je k nahlédnutí u výrobce [18;19]. Řetězce cyklických glukóz jsou 3D síťovány do gelu etherovými vazbami. Vzniklý maticový pórovitý gel se využívá při gelové

chromatografii (GPC „gel permeation chromatography“) pro oddělení látek s podobnou molekulovou hmotností. V článku [10] popisují síťování pomocí jedovatého epichlorhydrinu a oxychloridu fosforečného při zkoušce bobtnání ve fyziologickém roztoku. Bobtnání hydrogelu bylo zamezeno.

- síťování fyzikálními vazbami

Pevnost fyzikálních vazeb je několikanásobně nižší než u vazeb kovalentních. Mezi fyzikální vazby řadíme mezimolekulární a dále vazby prostřednictvím indukovaných dipólů a vodíkových můstků. Příkladem realizace vazby vodíkovým můstkem u pevných látek je želatina z glutinu. Glutin je bílkovina, která se získává ze zvířat, přesněji z části bohaté na kolagen - kopyta, šlachy, chrupavky atd. Vařením se získá čistý glutin, který má s vodou za vymezených teplot rosolovací schopnosti. Výsledkem je želatina síťovaná do tří dimenzí, jež je rozpustná opět ve vodě.

Autor článku Hennink W.E. [5] se zabývá využitím hydrogelu dextransu v kombinaci s kyselinou mléčnou jako nosiči léků pro živý organismus obratlovců s řízenou dobou rozpadu. Graficky je proces zakreslen na obr. 6. Tento biopolymerní přípravek není organismu škodlivý. Komplex byl síťován pomocí navazování molekul dextransu s řetězcí kyseliny mléčné L- a D- viz schéma obr. 6 a při 80 °C.



Obr. 6 Schéma tvorby hydrogelového komplexu dex / kyselina mléčná, převzato z [5]

Všeobecně lze konstatovat, že polysacharidy využívají při fyzikálním síťování volných párových iontů. Hydrogely chitosanu se fixují například inosianem sodným (E631) pomocí intermolekulárních vazeb. Iontovými vazbami síťujeme chitosan kyselinou polyfosforečnou, doxorubicinu, fosfátovým pudrem či octanem vápenatým. Pro dextran je tato metoda vhodná z důvodu řízené degradace, a tedy využití dextranu ve farmaceutickém průmyslu jako nosiče pro léčiva, „in vivo“ látky s dlouhým časovým intervalem dávkování (např. vitamíny, antihistaminikum, antiseptika atd.) nebo jako nový polymer pro výrobu kontaktních čoček [5].

- síťování chemickými vazbami

Síťování chemickými vazbami polysacharidy je velmi univerzální metoda s dobrou mechanickou stabilitou. Dochází k tvorbě kovalentních vazeb mezi jednotlivými polymerními řetězci molekul, kde síťovací činidlo tvoří 3D síť v prostoru. Nerozpustná a netoxická nanovláknenná vrstva z dextranu by mohla díky své biokompabilitě najít využití v medicíně jako hostitelský skelet pro buněčné bujení a v orgánovém inženýrství při výrobě umělých orgánů. Bakteriálně a virově neprůchodné ochranné materiály z dextranu mohou najít uplatnění v traumatologii, chirurgii apod. Pro segregaci látek z krevního oběhu plní vláknenná vrstva funkci filtru. Nabízí se možnost potahovat fixovanou nanovláknennou vrstvou dextranu ortopedické a traumatologické implantáty, které by jinak tělu byly nepřírozené, a tím narušovaly obranný systém organismu. Koncentrace síťovacího činidla, biopolymeru, teplota a zvolený časový interval procesu tvorby mezimolekulárních vazeb výrazně ovlivňují výslednou stabilitu. S rostoucí koncentrací vytvořených síťovacích můstků vzrůstá pevnost, chemická odolnost a snižuje se rychlost degradace [4].

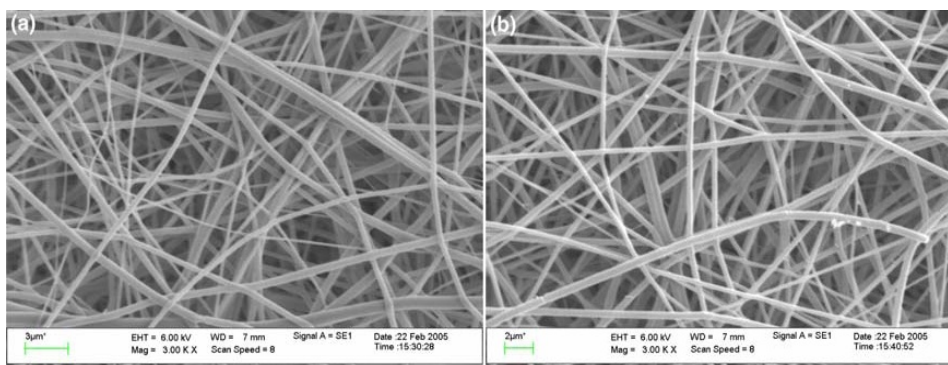
- a) síťování radikálovou polymerizací na dvojné vazbě

Síťovací proces je založen na reakci dextranu rozpuštěného ve vodě a glycidylmetakrylátu ($C_6H_8O_3$). Přidáním této toxické látky vznikne hydrogel. Pomocí dalších aditiv tetramethylen NNNN-diamin amonia peroxydisulfátu, NN-methylenbisacrylamid a kyseliny maleinové za pomoci inhibičního UV záření vzniknou nerozpustné vazby, které jsou síťovány na vinylových skupinách. V článku autora Jiang H. [11] se popisuje využívání radikálové polymerace k zesíťování

dextranové membrány UV zářením a 2,2-dimethoxy-2-phenylacetophenone v 1 % koncentraci, který je ovšem opět toxický pro životní prostředí.

b) síťování dextranu aldehydy

Nejčastěji používaným aldehydem k síťování polysacharidu včetně dextranu je toxický glutaraldehyd ($C_5H_8O_2$). Reakce hydroxylových skupin se urychluje katalyzátorem chloridu hořečnatého ($MgCl_2$). Je zapotřebí kyselého prostředí a vysoké teploty (70 - 90 °C). Detaily reakce, vlastnosti roztoků a nastavení přístrojů jsou popsány v článku [8], kde přidáním různých koncentrací glutaraldehydu a $MgCl_2$ do vodného roztoku dextranu v rozmezí 40 – 60 % koncentraci, následným elektrostatickým zvlákněním z jehly a síťováním v horkovzdušné komoře byla získána nerozpustná vrstva dextranu s různými vlastnostmi vláken a dobou rozpustnosti ve vodě. Glutaraldehyd je vysoce toxický, tudíž tato metoda není vhodná pro biomateriály.



Obr. 7 Snímek SEM nanovrstvy z 1 ml roztoku dextranu 50 % hm. ve vodě, 0,4 ml glutaraldehyd 50 % hm.ve vodě a 0,03 g $MgCl_2$ před (A) a po vytvrzování (B) v horkovzdušné komoře, zvětšení 3 000x, přejato z [8]

Důkaz stabilizace dextranu byl proveden na zkoušce bobtnání, tzn. porovnávání před a po smočení vzorku v závislosti na úbytku hmotnosti. S rostoucí dobou horkovzdušného vytvrzování, rostoucím poměrem v objemu katalyzátoru $MgCl_2$ a vzrůstající teplotou se zvyšovala i odolnost vůči rozpustnosti. Vliv horkovzdušného síťování na nanovláknina nezaznamenan, pouze se mírně změnily mechanické vlastnosti vláken. Morfologické

změny nanovláknenné vrstvy nebyly prokázány, došlo pouze k malé redukci průměrů jednotlivých vláken viditelných na snímku obr. 7 umístěného výše [8].

c) síťování přídavnou reakcí

Další možností stabilizace dextranu je síťování následnou reakcí. Používá se 1,6-hexamethylenediisokyanát nebo 1,6-hexanedibromid. Vytvářejí mezimolekulární vazby v řetězcích polysacharidu. Výhodou je snadná aplikovatelnost, ovšem doporučuje se provádět dvouroztokovou aplikací. První je roztok polysacharidu ve vodě, druhý obsahuje organické rozpouštědlo a síťovací činidlo. Výsledkem reakcí obou sloučenin vzniká zesíťovaný hydrogel na hydroxylových skupinách v 3D síti. Látky popsané v této kapitole nejsou k životnímu prostředí a organismům přívětivé [4].

d) kondenzační síťování

Velmi účinné činidlo pro fixaci polysacharidů je NN-(3-dimethylaminopropyl)-N-ethyl karbodiimidu. Tato metoda tvoří kovalentní vazby mezi řetězcí polysacharidu, a tudíž jsou spoje silnější než iontové vazby [4].

Ke kontrole výsledků síťování polysacharidů se používají metody popsané ve zdroji [4]:

- infračervený spektrometr
- X-ray difraktometr
- skenovací elektronová mikroskopie (SEM)
- měření absorpce vody či úbytku polymeru ve vodním prostředí

2.4 Nanotechnologie

2.4.1 Nanovláknna

Nanotechnologie se dostává dnes do každého vědního oboru. V textilním odvětví je vrcholem technologického pokroku výroba vláken v řádech nm. Nanovláknna se charakterizují svým specifickým průměrem do $1\text{ }\mu\text{m} = 1000\text{ nm}$ a vysokým měrným povrchem [m^2/g].

2.4.2 Elektrostatické zvlákňování polymerů

Elektrostatické zvlákňování je odborně popsáno zdroji [1] a [7]. Je to výrobní proces polymerních vláken objeven ve 20. století. Technologie využívá vysokého napětí k vytvoření náboje v polymerním roztoku nebo tavenině. Elektroda přiváděného napětí je přímo v kontaktu se zvlákňovaným polymerem. Polymer díky vysokému napětí mezi elektrodou a kolektorem vytvoří tzv. Taylorův kónus, což je místo, kde se napětí indukuje. Náboj obalený polymerem je elektrickým pólem vystřelen k opačně uzemněné elektrodě v podobě kolektoru. Polymer tvoří vlákno dloužením. Dráha náboje není úměrná vzdálenosti elektrod. Náboj kruhovou cirkulací směrem ke kolektoru prodlouží vlákna až na rozměr průměru v řádech nm.

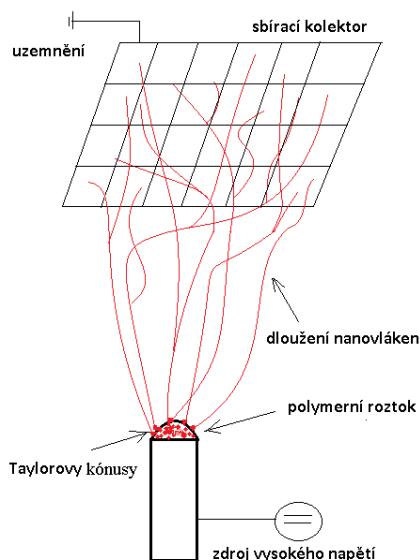
Faktory ovlivňující elektrostatické zvlákňování, popsány v knize [27]:

- 1) teplota [$^{\circ}\text{C}$]
- 2) molekulová hmotnost [g/mol]
- 3) distribuce molekulové hmotnosti
- 4) smykové veličiny (tixotropní a reopexní chování)
- 5) viskozita [$\text{Pa}\cdot\text{s}$]
- 6) vliv aditiv (PAL, barviva, změkčovadla atd.)
- 7) druh rozpouštědla
- 8) vzdálenost elektrod [m]
- 9) relativní vzdušná vlhkost [%]
- 10) přivedené napětí do elektrody [kV]
- 11) koncentrace polymerního podílu v rozpouštědle
- 12) rychlost otáčení válce (na kontinuální výrobě na válečku) [ot./min]
- 13) vzduchové proudění a poryvy
- 14) množství polymeru vytlačeného skrz hrot jehly (trysky) [ml/s]
- 15) kvalita polymeru, rozpouštědla a aditiv (degradace, znečištění, stáří atd.)

2.4.3 Metody elektrostatického zvlákňování

- 1) z jehly nebo trysky
- 2) **z volné plochy**, např. tyčky
- 3) kontinuálně z válečku při výrobě plošné textilie – **metoda Nanospider**

Zvlákňování **z volné plochy**, např. tyčky zakončené plochou o průměru 1 cm kolmé ke kolektoru, je pouze laboratorním testováním schopnosti zvlákňovat roztok či taveninu touto technologií. Graficky znázorněné ilustrací obr. 8 . Pozitivní výsledky elektrostatického zvlákňování z plochy jsou před přípravou na kontinuální výrobu metodou Nanospider. Na elektrodě z elektricky vodivého materiálu je umístěn polymerní roztok o objemu cca 0,2 ml. Zapnutím přívodu napájení postupně narůstá napětí mezi elektrodami. Při optimálních podmínkách se vytvoří více Taylorových kónusů a dochází k vystřelování nábojů k uzemněnému kolektoru obohacené vznikajícími dlouhými nanovláknky. Přínos tohoto postupu spočívá v možné modifikaci polymerního roztoku nebo taveniny mezi jednotlivými pokusy, malou spotřebou materiálu a zrakem viditelnými výsledky na sběrné elektrodě s kryjícím podkladovým materiálem.



Obr. 8 Ilustrace principu elektrostatického zvlákňování z plochy (tyčky)

V případě pozitivních výsledku experimentu z plochy, kde bude intenzivní tvorba Taylorových kónusů na povrchu kapky, je velmi pravděpodobné, že se daný polymerní roztok bude zvlákňovat i kontinuálně **metodou Nanospider**. Kovový váleček s výstupem symetrály je připojen nevodivým materiálem k elektrickému motoru s nastavitelnou rychlostí otáčení. Váleček je dle své velikosti upevněn v korýtku z elektricky neaktivního materiálu. Pravidelným otáčením válečku se neustále obnovuje vrstva polymeru na povrchu. Při zvlákňování se na otáčejícím povrchu vytvoří

v nejbližší možné vzdálenosti od kolektoru Taylorovy kónusy a dochází v pozitivním případě k tvorbě vrstvy z nanovláken na pokladovém materiálu na kolektoru. Před uzemněným kolektorem prochází netkaná textilie s nastavitelnou rychlostí posunu, což je podstatou kontinuální linky Nanospider. Výhodou je stejnoměrná vrstva nanovláken, snadná modifikace polymeru, produktivita, jednoduchost, flexibilita rozměrů dle požadavku zákazníka. Nevýhodou je především cena za finální výrobní linku a aktuálně malé uplatnění plošných nanovláknenných textilií.

2.4.4 Charakterizace nanovláknenných vrstev

Skenovací elektronový mikroskop umožňuje zviditelnění připravených nanovláken. Princip snímání je jako u světelného mikroskopu, ovšem fotony jsou nahrazeny elektrony a skleněné čočky elektromagnetickými čočkami. Díky nižší vlnové délce elektronů je rozlišovací mezní schopnost vysoká, a to až do 1 000 000 x efektivního zvětšení. Velmi důležitou vlastností je ostrost a rozlišení optiky SEM. Dle nastavení a typu elektronového mikroskopu je možné snímat v různých kvalitách předměty v mezích mikro a nano.

Shrnutí teoretické části BP a předpoklady pro experimentální část

Cílem provedené rešerše bylo seznámit se s polysacharidy, jejich vlastnostmi a molekulovou strukturou, zejména vyšetřit specifické znaky dextranu.

Teze experimentální části bakalářské práce:

- připravit nanovláknennou vrstvu elektrostatickým zvlákněním dextranu rozpuštěného ve vhodném rozpouštědle
- charakterizovat připravenou nanovláknennou vrstvu
- navrhnout způsob její stabilizace proti rozpouštění
- vyhodnotit vlastnosti vláken a vláknenných vrstev
- zvolit optimální parametry roztoku dextranu pro tvorbu kvalitní plošné textilie vhodné pro další aplikace

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Předpokladem experimentální části bakalářské práce bylo nalézt a aplikovat vhodné rozpouštědlo pro dextran a správnou volbou aditiv upravit roztok dextranu vhodný k elektrostatickému zvlákňování. K výrobnímu procesu elektrostatického zvlákňování byla zvolena metoda zvlákňování z plochy (tyčky), protože při úspěšné tvorbě vrstvy touto metodou je vysoká pravděpodobnost vzniku plošné textilie metodou Nanospider.

Seznam použitých zařízení:

viskozimetr - RotoVisco, výrobce Haake

měřicí jednotka povrchového napětí - Tensiometr K9, výrobce Krüss

zařízení na elektrostatické zvlákňování polymerů z plochy

elektronické váhy s přesností na 0,001 g

SEM (skenovací elektronový mikroskop)- Phenom, výrobce Fei

optický mikroskop - Pixelink, výrobce Nikon

horkovzdušná komora – typ ULM 400, Memmert

elektromagnetické míchadlo – typ 16SH, Fisher Scientific

Seznam použitých chemikálií v experimentální části:

klinický dextran; $M_h = 70\,000$ g/mol, výrobce PharmaCosmos, Dánsko

DMSO- dimethylsulfoxid; výrobce Penta

PEO – polyethylenoxid; $M_h = 200\,000$ g/mol, výrobce Sigma-Aldrich

PEG – polyethylenglykol; $M_h = 20\,000$ g/mol, výrobce Sigma-Aldrich

PAA - kyselina polyakrylová; $M_h = 70\,000$ g/mol, výrobce Sigma-Aldrich

Triton X-100 - výrobce Sigma-Aldrich

3.1 Příprava nanovláknenných vrstev na bázi dextranu

3.1.1 Rozpustnost dextranu

Markromolekuly dextranu se lehce difundují ve vodě. Tento polysacharid patří do skupiny polárních látek, tedy naopak není rozpustný v nepolárních rozpouštědlech typu benzín či toulén. Pro polymerní roztoky byla zvolena 50 % koncentrace dextranu. Shrnutí výsledků rozpustnosti v rozpouštědlech je zaneseno v tabulce 1.

Voda se osvědčila jako rozpouštědlo dextranu. K nasycení vodného roztoku došlo při maximální koncentraci 70 % hm. dextranu. Při kontaktu s vodou začal prášek dextranu pomalu viditelně bobtnat. Zprvu z bílé směsi se pomalu začala stávat průzračná, viskózní kapalina s místními doposud nerozpuštěnými shluky dextranu. Použitím magnetického míchadla došlo během pár hodin k úplnému rozpuštění dextranu. Výsledný čirý roztok byl bez jakýchkoliv bílých zbytků a vzdušné bubliny se odstáním plně vypudily.

Dalším rozpouštědlem byl zvolen glycerol obsahující tři hydroxylové skupiny, tzn. propan-1,2,3-triol. Dextran se v této viskózní kapalině rozpouštěl pomaleji, než tomu bylo u vody. Časem byl tento polysacharid zcela rozpuštěný, ale i přes použití míchadla zůstal mírně zakalený. Zde je možné diskutovat o kvalitě glycerolu, přesněji hlavně o stáří a způsobu nakládání s lahví v laboratoři.

Ethylenglykol obsahuje dvě koncové hydroxylové skupiny, patří tedy mezi dioly. Dextran se rozpustil dobře a roztok byl bezbarvý.

Použití DMSO u dextranu bylo popsáno v článku Jiang H. [11]. Toto polární rozpouštědlo rozpustilo dextran při 50 % hm. špatně. Dextran se v DMSO shlukoval. Při nižší koncentraci dextranu již DMSO rozpouštělo, ideální hmotnostní procento bylo 30 % hm. dextranu.

Dimethylformamid dextran nerozpustil. Došlo k vysrážení prášku, a i přes použití magnetického míchadla nebyla rozpustnost úspěšná. Toto rozpouštědlo v kombinaci s DMSO bylo popsáno v článku od Ritcharoen W. [8].

Kyselina citrónová (KC) obsahuje tři karboxylové skupiny a jednu hydroxylovou. Rozpustnost ve vodných roztocích o různých koncentracích této kyseliny byla vynikající. Dextran se během několika minut zcela rozpustil a pomocí magnetického míchadla došlo k úplné disociaci na hydroxylových skupinách. Po odstání byl roztok čirý bez bublin. Maximální obsah dextranu byl 65 % hm. v 10 % kyselině citrónové. Vzrůstající koncentrací kyseliny citrónové ve vodném roztoku se zákonitě snižovalo množství dextranu schopného úplné rozpustnosti.

Jednofunkční kyselina octová (KO) rozpustila dextran také velmi dobře. Prášek ihned začal bobtnat a měknout. Po několika minutách došlo k úplnému rozpuštění a čirému projasnění dříve bílého roztoku. Rozpustnost byla testována pro 40 % a 60 % vodné roztoky kyseliny octové.

Isopropanolu (IP) byl zvolen z důvodu nižšího povrchového napětí než voda ($\sigma = 23 \cdot 10^{-3} \text{ N/m}$) [12]. Vodný 10 % homogenní roztok isopropanolu velmi rychle dextran rozpustil. Již při prvním kontaktu s práškem začal proces rozpouštění. Po míchání a odstání měl roztok čirou strukturu bez bublin a zbytků dextranového prášku. Limitní koncentrace pro 50 % hm. dextranu je roztok 40 % isopropanolu ve vodě. V tomto roztoku se již dextran nerozpouštěl, naopak se vysrážel na dně v mazlavé podobě. Nad shluky se vytvořila čirá kapalina, nejpravděpodobněji isopropanol, který byl vytlačen dextranem z vody. Tato koncentrace již není vhodná pro rozpouštění dextranu. V 20 % roztoku isopropanolu tento jev již nenastal.

Dextran se ve vodném 35 % roztoku kyseliny polyakrylové (PAA) rozpustil až po snížení koncentrace dextranu. K úplné rozpustnosti u 50 % hm. dextranu nedošlo. Při 20 % hm. dextranu bylo rozpouštění plynulé. Bílý prášek se rychle rozpouštěl v kyselině s vodou. Výsledná směs měla barevný odstín dle kyseliny polyakrylové, tedy hnědožlutý. Polární rozpouštědlo ethanol (ETOH) dextran nerozpustilo a okamžitě došlo k vysrážení. Tento test byl ověření, že dextran není rozpustný v jednoduchých alkoholech. Ve vodném roztoku ethanolu se již dextran rozpustil. Horní hranice obsahu ethanolu v takovém roztoku je 40 % hm. Povrchové napětí vody ($\sigma = 72,75 \cdot 10^{-3} \text{ N/m}$) bylo 40 % přítomností ethanolu sníženo více jak o polovinu, tedy cca k ($\sigma \approx 43,2 \cdot 10^{-3} \text{ N/m}$).

Polymerní směsi dextransu ve vodných roztocích polythylenoxidu (PEO) a polyethylenglykolu (PEG) byly též vyšetřeny. Dextran byl v 10 % hm. vodných roztocích těchto polymerů rozpuštěn pomocí magnetického míchadla úplně až po dvou hodinách. Tyto polymery byly v minulosti již elektrostaticky zvlákněny, tudíž se předpokládalo, že budou zvláknovat obohacené makromolekulami dextransu.

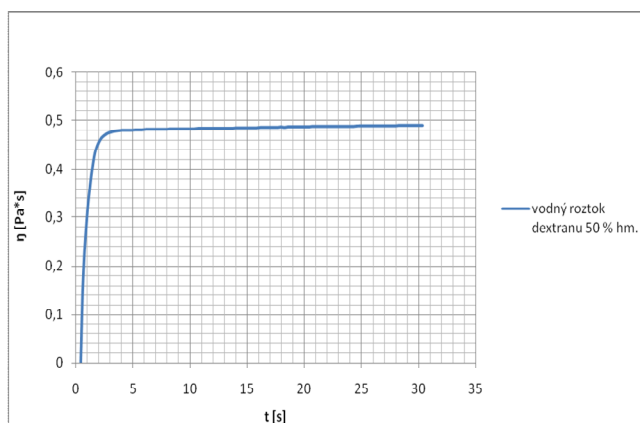
Výsledky rozpustnosti dextransu jsou pro srovnání zaneseny do tabulky 1 . Rozpustnost je udávána pro dextran 50 % hm. v rozpouštědle.

Tab. 1 Rozpustnost dextransu v 50 % koncentraci v různých rozpouštědlech

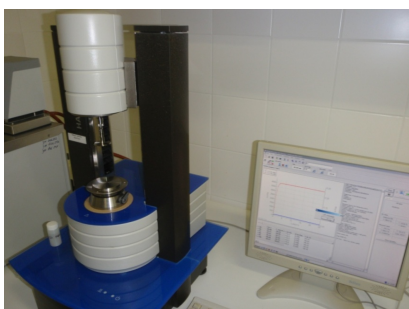
rozpouštědlo	rozpustnost
voda	ano
glycerin	ano
ethylenglykol	ano
dimethylformamid	ne
kyselina citrónová 10% hm./voda	ano
kyselina citrónová 30% hm/voda	ano
kyselina octová 40% hm./voda	ano
kyselina octová 60% hm./voda	ano
ethanol	ne
ethanol 40% hm./voda	ano
kyselina polyakrylová 35% hm./voda	ne
DMSO	ne
isopropanol	ne
isopropanol 10% hm./voda	ano
isopropanol 20% hm./voda	ano
isopropanol 40% hm./voda	ne
PEO a PEG 10% hm./voda	ano

K promíchávání vzorků s objemem přesahující 1 ml bylo použito magnetické míchadlo v nastavení $f = 250$ ot./min. při teplotě 22 °C pro časový interval 10 min. V případě vzorku pod 1 ml bylo použito manuální míchání tyčkou. Rozpustnost byla vyhodnocena vizuálně po 2 hodinách odležení.

Viskozita 50 % hm. dextranu ve vodě byla změřena pomocí viskozimetru RotoVisco, který je zachycen na snímku obr. 10. Bylo prokázáno, že viskozita se v čase stane konstantní, přesněji znázorňuje graf obr. 9 níže. Křivka viskozity ustala po 20 vteřinách a má hodnotu 0,48 Pa*s. Viskozita byla změřena uspořádáním plocha vs. plocha. Odpor otáčení rotoru (kruhová destička) proti statoru (plocha s polymerem v nulovém bodě) byl zaznamenán graficky. Objem roztoku byl 0,5 ml s dobou měření 30 sekund. Počet měření viskozity bylo kvůli vysoké ceně a malému množství dextranu třikrát opakováno. Výsledná křivka níže je průměrná hodnota těchto měření. Vyšetřování vlivu tenzidu triton probíhalo metodou smáčení platinové destičky v dobře rozmíchaných různě koncentrovaných vzorcích vody s tritonem.



Obr. 9 Graf závislosti viskozity na čase



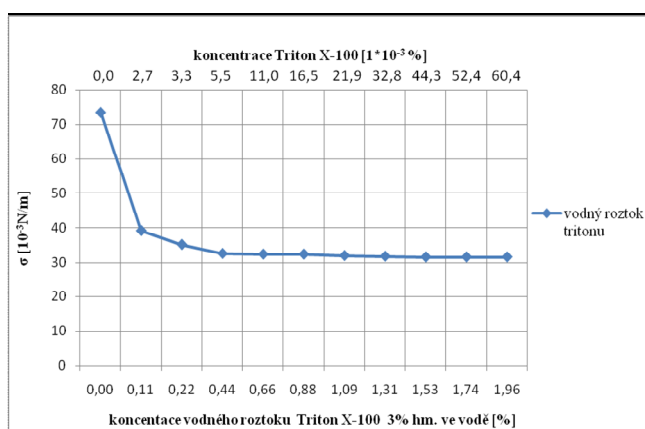
Obr. 10 Snímek viskozimetru RotoVisco

Podmínky měření viskozity: $T = 18,9\text{ }^{\circ}\text{C}$, $f = 500\text{ ot./min}$, $V = 0,5\text{ ml}$, $\text{pH} = 5$

3.1.2 Ovlivnění povrchového napětí roztoku

Jak je opakovaně zjišťováno, průběh elektrostatického zvlákňování je významně ovlivněn povrchovým napětím polymerního roztoku. Tato hodnota závisí nejen na kvalitě rozpuštění polymeru, ale i na použitém rozpouštědle. Se vzrůstajícím povrchovým napětím roztoku klesá výrazně schopnost tvorby vláken. Velikost povrchového napětí je přímo úměrná také teplotě a tlaku. Se vzrůstající teplotou a tlakem povrchové napětí kapalin klesá [27].

Povrchové napětí vodného polymerního roztoku může být efektivně snižováno pomocí volby vhodného rozpouštědla a aditivy, za které byly vybrány ethanol a neionogenní tensid Triton X-100 (oktylphenol ethoxylát) 3 % hm. ve vodě (dále jen **triton**). Vliv tritonu byl změřen na zařízení pro zjištění povrchového napětí kapalin Krüss Tensiometr K9 zobrazeného na snímku obr. 12 a je graficky znázorněn v grafem obr. 11. Při 1 % hm. tritonu dochází k ustálení minimálního povrchového napětí vody na hodnotě $\sigma = 31,5 \cdot 10^{-3} \text{ N/m}$. V grafu je zanesena křivka vývoje hodnot povrchového napětí vody se vzrůstající koncentrací tritonu.



Obr. 11 Graf vlivu tritonu na povrchové napětí vody

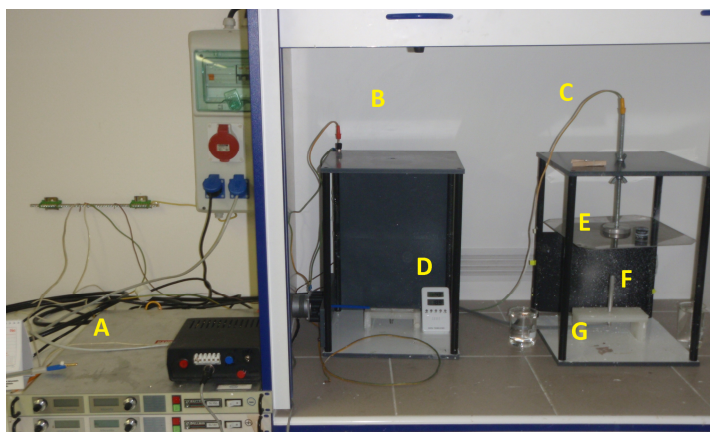


Obr. 12 Snímek měřicího zařízení Krüss Tensiometr K9

3.1.3 Aplikace elektrostatického zvlákňování z plochy

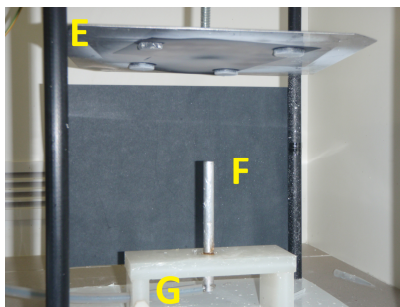
Vodný roztok dextransu byl zvlákňován v elektrostatickém poli z elektrody (tyčky) znázorněné na snímku obr. 13. Na snímku obr. 14 je v detailu zvlákňovací katoda včetně kolektoru s kryjícím sběrným materiálem.

Zároveň byl vyšetřen vliv různých aditiv na proces elektrostatického zvlákňování. Okolní podmínky při zvlákňování, zejména však relativní vlhkost a teplota, která měla v laboratorním prostředí hodnoty 17,8 – 22,5 °C, ovlivňovaly schopnost přenosu nábojů ke kolektoru. Relativní vlhkost se pohybovala v rozmezí 23 – 56 %. Přenosová vzdálenost z plochy tyčky o průměru 1 cm s kapkou roztoku ke kolektoru (0,2 ml) byla 12 cm. Vysoké napětí bylo na zdroji navyšováno až do hodnoty 44 kV, posléze korigováno na optimální hladinu pro přenos polymerního roztoku nebo směsi. Dle vizuálně zjišťované intenzity dloužení a tvorby vláken bylo napětí na elektrodě nejčastěji v intervalu 18 – 32 kV.



Obr. 13 Snímek vysokonapěťového zařízení pro elektrostatické zvlákňování

A - zdroj vysokého napětí [kV]; B - příprava pro elektrostatické zvlákňování z válečku metodou Nanospider; C - elektrostatické zvlákňování z plochy; D - digitální teploměr s funkcí měření relativní vlhkosti; E - kolektor se sběrným podkladovým materiálem; F - zvlákňovací prostor mezi elektrodami (12 cm); G – zvlákňovací elektroda (tyčka) s přívodem vysokého napětí



Obr. 14 Snímek detailu tyčky a kolektoru s kryjícím sběrným materiálem

E - kolektor se sběrným podkladovým materiálem; F- zvlákňovací prostor mezi elektrodami (12 cm); G - zvlákňovací elektroda (tyčka) s přívodem vysokého napětí

3.1.3.1 Vodné roztoky dextransu

Předem připravený a dobře rozmíchaný vzorek dextransu ve vodě byl testován v mezích koncentrací 40 – 60 %. Se vzrůstající koncentrací dextransu se prodlužovala doba rozpouštění a též zvyšovala viskozita. Vzorek byl čirý, bez zápachu i zbytků částí dextransu. Vodný roztok dextransu se nepodařilo bezjehlově zvláknit, tudíž byl roztok modifikován příhodnými aditivy. Stručná charakteristika použitých aditiv a průběhu zvlákňování je zaznamenána v tab. 2 .

Přidávaná aditiva byla dávkována přímo během procesu elektrostatického zvlákňování do vodného roztoku dextransu. Dávkovalo se po kapkách (20-50 $\mu\text{l/ml}$) ve snaze o nejlepší kombinaci pro úspěšné zvlákňování na tyčce. Objem polymeru na ploše zvlákňovací elektrody (tyčka) byl 0,2 ml. Aditiva snižovala viskozitu roztoku.

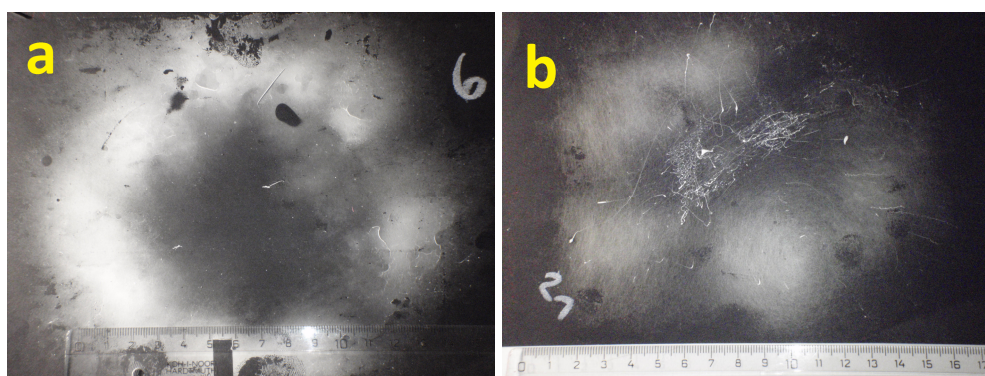
Výsledná známka vzorku je objektivním hodnocením vrstvy jako celku. Ovlivňující parametry jsou intenzita zvlákňování, počet Taylorových kónusů, zaplnění vláken na podkladovém materiálu a hustota vláken. Známkování je metodou 1 – 5, kdy 5 je nejhorší a 1 nejlepší.

Tab. 2 Vliv aditiv na zvlákňování vodných roztoku dextranu

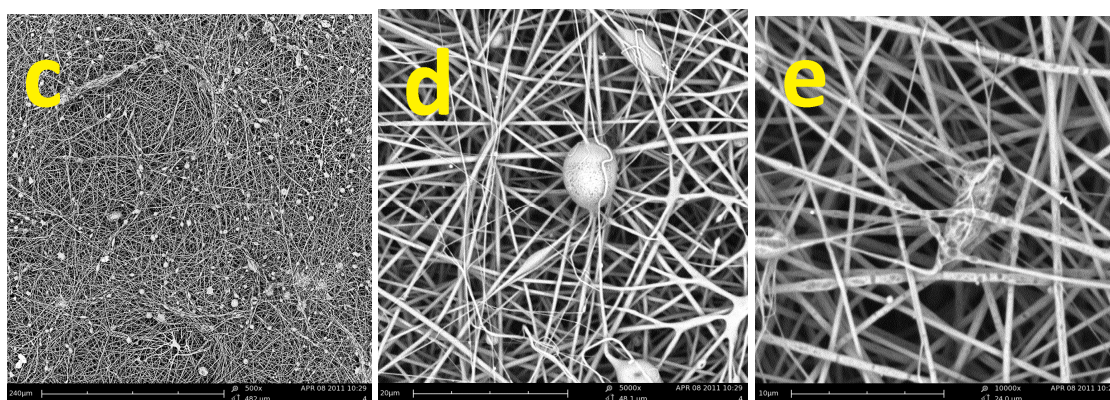
	rozpouštědlo	dextran [%] hm.	aditiva (20-50 μl / ml)	průběh zvlákňování a vlastnosti nanovlákněné vrstvy	známka
1	voda	50		žádné; nezvlákňuje	5
2	voda	50	triton	více Taylorových kónusů (TK); bodový obrys kruhu	2
3	voda	40	triton, 40% KO, 10% KC	kruhový obrys; prázdný střed; nerovnoměrná	4
4	voda	50	triton, 10% KC	kvalitní vrstva v TK; prázdný střed; tvar kruhu	4
5	voda	50	DMSO, 2% NaCl	žádné; nezvlákňuje	5
6	voda	50	triton, 40% KO	bodově kvalitní místa; slabší ve středu a mezi body TK	1
7	voda	50	40% ETOH	bodově slabé vrstvy, stalaktitový jev	3
8	voda	40	40% ETOH, 10% KC	velmi tenká; nerovnoměrná	4
9	voda	50	DMSO, triton	vrstva v kruhu; slabá	4
10	voda	50	KF	žádné; nezvlákňuje	5
11	voda	50	triton, 25% KOH	žádné; nezvlákňuje	5
12	voda	50	10% isopropanol	bodově dvě místa	4
13	voda	60	triton	tenká; rovnoměrná	3
14	voda	40	triton, glycerin	žádné; nezvlákňuje	5
15	voda	60	triton, DMSO	žádné; nezvlákňuje	5
16	voda	55	ETOH, 60% KO, 10% KC	kvalitní vrstva; prázdný střed; tvar kytky s více TK	3

Vliv 2 % hm. chloridu sodného (NaCl) či změna pH pomocí louhu (hydroxid draselný - KOH) nemělo pozitivní vliv na intenzitu zvlákňování a výslednou vrstvu vláken.

Dostatečné zvlákňování za daných podmínek vykazoval vzorek č. 2 (snímky obr. 15a, 16) . Přidáním tří kapek tritonu (20 $\mu\text{l/ml}$) došlo k snížení povrchového napětí, čímž roztok (0,2 ml) začal zvlákňovat. V polymerním roztoku se vytvořily po obvodu Taylorovy kónusy, ze kterých se dlužila vlákna směrem ke kolektoru. Zvlákňování probíhalo při velikosti napětí 28 kV. Relativní vzdušná vlhkost byla 56 %. Na snímcích je patrný obsah defektů. Tvorbu defektů ovlivňuje mnoho vedlejších vlivů, např teplota, relativní vzdušná vlhkost, koncentrace dextranu, napětí na ve zvlákňovacím prostoru, distribuce a kvalita polymerního roztoku atd.

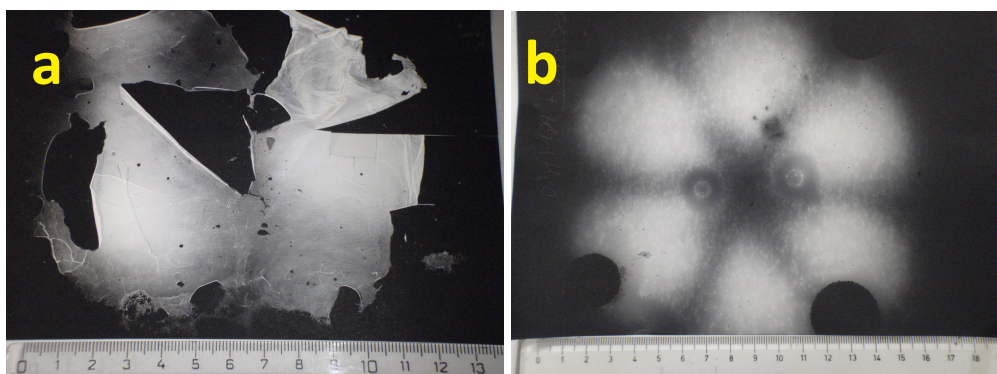


Obr. 15 Snímek výsledné vrstvy na papírovém podkladu vzorku č. 2 (a), pro srovnání vpravo vzorek č. 7 (b)

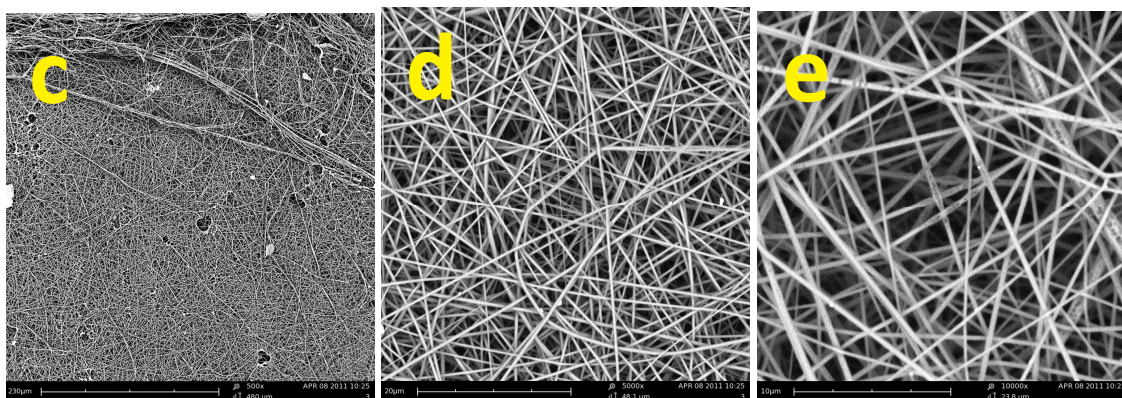


Obr. 16 Snímek SEM elektrostatičticky zvlákňených vláken ze vzorku č. 2 s viditelnými defekty na vláčknech, zvětšeno 500x (c), 5 000x (d) a 10 000x (e)

Vzorek č. 6 (snímky obr. 17a, 18) s aditivem triton obsahoval navíc 50 $\mu\text{l/ml}$ kyseliny octové. Tato karboxylová kyselina pozitivně ovlivnila proces zvlákňování a vlastnosti výsledných vláken, poněvadž snížila pH roztoku polymeru z pH 5 na pH 2. Kyselé prostředí napomáhá elektrostatickému zvlákňování, protože pravděpodobně řetězce dextranových makromolekul vlivem nižšího pH lépe bobtnají a napřimují z klubek, čímž dochází k snadnějšímu přenosu v elektrostatickém poli díky menším vnitřním intermolekulárním silám a koncentraci řetězcového zapletení. Vytvořená vrstva byla lehce oddělitelná od podkladového materiálu. Vláknina s kyselinou octovou též neobsahovala defekty, které jsou viditelné na SEM snímcích (obr. 16) u vodného roztoku č. 2.

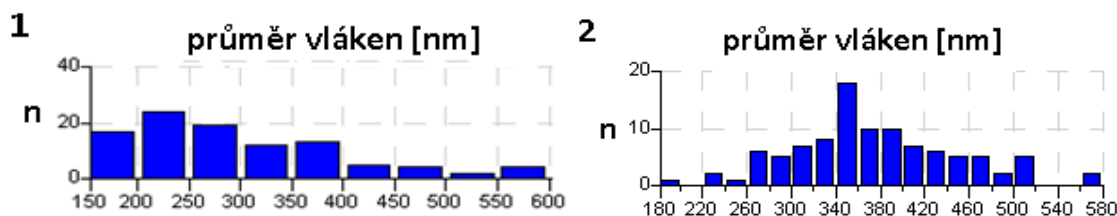


Obr. 17 Snímek výsledné vrstvy na papírovém podkladu vzorku č. 6 (a) a vzorku č. 16 (b) pro srovnání intenzity a kvality vrstev



Obr. 18 Snímek SEM elektrostaticky zvlákněných vláken ze vzorku č. 6 bez defektů, zvětšeno 500x (c), 5 000x (d) a 10 000x (e)

Velikost defektů lze odhadnout na cca 2 - 5 μm . Vrstva č. 6 je velmi snadno oddělitelná od podkladového materiálu. Ve středu obr. 17 je viditelné poškození vlákenné vrstvy z důvodu mechanického poškození během manipulace a výrobního procesu. Distribuce vláken je u obou vzorků rozdílná a znázorněna grafy obr. 19. Zatímco u vzorku č. 2 je hlavní rozmezí 150 – 400 nm s průměrnou hodnotou 299 ± 103 nm, tak vzorek s přidavkem kyseliny octové č. 6 distribuuje většími průměry vláken, s výrazným zastoupením v mezi 340 – 420 nm a průměrem 374 ± 73 nm. Určení průměrů vláken byl použit snímek ze SEM při zvětšení 5 000x a počítačový program *LuciaTM G* v laboratoři univerzity.



Obr. 19 Grafy distribucí průměrů vláken vzorků č. 2 (1) a č. 6 (2),
počet měření $\Sigma_n = 100$

Koncentrace dextranu v roztoku byla stejná. Vliv kyseliny na morfologii vláken je tedy potvrzený. K elektrostatickému zvlákňování s nižším pH docházelo snadněji a intenzivněji. Při zvětšení 10 000x se zdají být vlákna porézní. Tento jev může být zapříčiněn odpařováním rozpouštědla či vyšší relativní vlhkostí v laboratoři.

U vzorku č. 16 je názorně vidět pravidelnost Taylorových kónusů po obvodu kapky polymeru. Tato vrstva byla velmi slabá a nebylo možné ji oddělit od podkladového papíru. Vláknenné vrstvy se po kontaktu s vodou ihned rozpouštěly. Více o síťování dextranových nanovláken je popsáno v dalších kapitolách této bakalářské práce.

3.1.3.2 Polymerní směsi a roztoky organických rozpouštědel s dextranem

Předchozí kapitola pojednává o vodných roztocích dextranu a účinku aditiv na zvlákňování. Tato kapitola se soustřeďuje na volbu vhodného organického rozpouštědla

či volbu takové polymerní směsi, která je vhodná pro tvorbu nanovláken obsahujících dextran.

Tabulka 3 porovnává roztoky isopropanolu a kyseliny citrónové jako vhodná rozpouštědla dextranu pro elektrostatické zvlákňování. Testování bylo při stejných nastaveních vysokonapětového elektrostatického zařízení, teplotě i vlhkosti. Vzdálenost elektrod byla nastavena na hodnotu 12 cm. Objem roztoku na ploše katody činil 0,2 ml.

Tab. 3 Porovnání zvlákňování různých koncentrací isopropanolu a kyseliny citrónové ve vztahu na koncentraci dextranu, v roztoku je již zahrnut přídatek tritonu (20 µl/ml)

	10% IP	15% IP	40% IP	10% KC	40% KC
dex 40 %	ANO	ANO	ANO	ANO	ANO
dex 50 %	ANO	NE	NE	ANO	ANO
dex 60 %	NE	NE	NE	ANO	NE

Tabulka 4 shrnuje průběh zvlákňování a celkové hodnocení výsledné vláknenné vrstvy za použití různých organických rozpouštědel a polymerních směsí v kombinaci s aplikovanými aditivy.

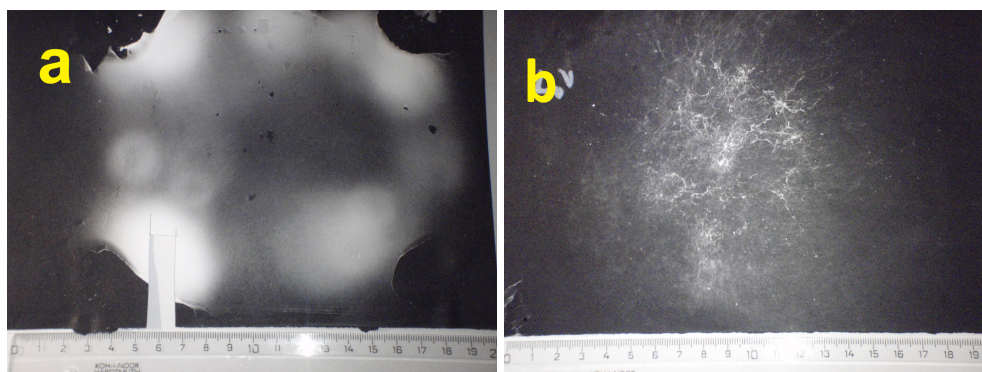
Případná aditiva byla dávkována opět přímo do polymeru (0,2 ml) během procesu elektrostatického zvlákňování. Dávkovalo se po kapkách (20-50 µl/ml) a opakovaly se laboratorní pokusy s docílením nejlepší kombinace.

Výslednou známku ovlivňují parametry: intenzita zvlákňování, počet Taylorových kónusů, zaplnění vláken na podkladovém materiálu a hustota vláken. Známkování je metodou 1 – 5, kdy 5 je nejhorší a 1 nejlepší.

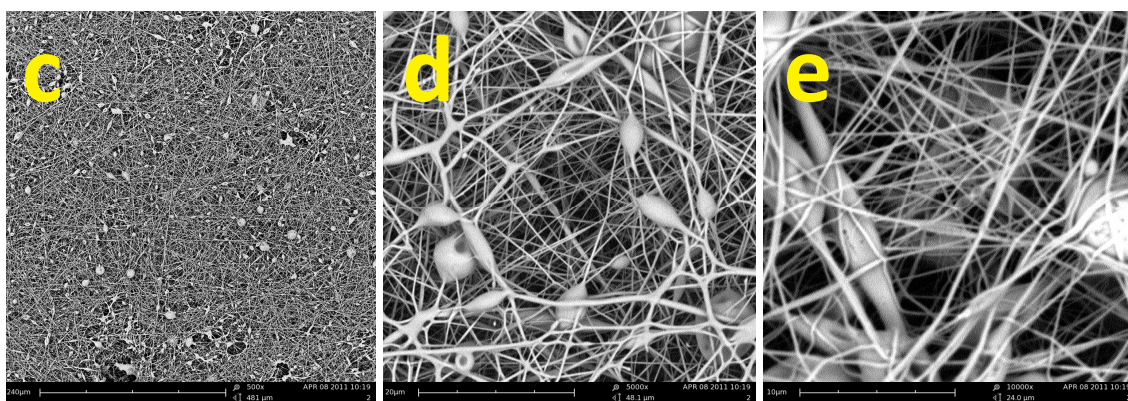
Tab. 4 Vliv aditiv na zvlákňování dextranu

	rozpouštědlo	dextran [%] hm.	aditiva (20-50 µl / ml)	průběh zvlákňování a vlastnosti nanovlákněné vrstvy	známka
17	10% KC	40		žádné; nezvlákňuje	5
18	10% KC	45	triton	bodové místní vrstvy z 4-5 TK; nerovnoměrnost	2
19	10% KC	50	triton, DMSO	slabé náznaky, stříkance	4
20	10% KC	50	triton, 60% KO	silná vrstva; prázdný střed; TK po okrajích	5
21	10% KC	50	triton	místní silné vlákenné body; kruhový tvar	3
22	30% KC	40	triton	tenké vrstvy v bodech TK	3
23	30% KC	50	40% ETOH; 40% glyoxal 3hm%	velmi tenké vrstvy v bodech TK	4
24	30% KC	60	triton; DMSO; 2% NaCl	žádné; nezvlákňuje; špatná rozpustnost	5
25	10% IP	40		zvlákňuje z 2-3 TK; přidáním PAL vrstvi slabě celou plochu	2
26	10% IP	50	triton	slabá vrstva po celé ploše; ze 6-7 Taylorových kónusů	1
27	10% IP	50	DMSO; 40% KO	bodové místní vrstvy z 4-5 TK; nerovnoměrnost	3
28	10% IP	50	60% KO, glyoxal	kvalitní silná vrstva; prázdná střed	2
29	15% IP	40	triton, 40% glyoxal., KF	tenká vrstva po celé ploše	2
30	15% IP	40	40% ETOH, 10% KC, 60% KO	místní silné vlákenné body; kruhový tvar po obvodu	3
31	40% IP	40	triton; DMSO, 10% KC	žádné; přenos velmi viskózního roztoku v stalaktitovém jevu	5
32	40% IP	50	triton	žádné; nezvlákňuje; problematická rozpustnost	5
33	glycerín	50	triton, 10% KC	žádné; nezvlákňuje	5
34	DMSO	50		žádné; nezvlákňuje, stříkance, špatná rozpustnost	5
35	PAA (70 tis.)	20	triton; DMSO	velmi tenká vrstva	4
36	5% PEO (200 tis.)	40	triton, 2% NaCl	stalaktitový jev; silná vlákna	4
37	5% PEO (200 tis.)	50	DMSO	stříkance a sprejování	4
38	10% PEO (200 tis.)	50	triton, 10% KC	náznak bodových vrstev, stříkance	5
39	5% PEG (20 tis.)	50	triton, 50 % KO, 50% ETOH	stalaktitový jev; 3 Taylorovy kónusy	4
40	40% ETOH	50		slabé vrstvy s viditelnými vlákny	3

Roztok dextransu a kyseliny citrónové velmi dobře elektrostaticky zvlákňoval. Nejintenzivnější vláknenná vrstva s kyselinou citrónovou byla vytvořena vzorkem č. 18 (snímky obr. 20a, 21). Kyselina citrónová snížila pH na hodnotu 3. Na rozdíl od kyseliny octové u vzorku č. 6 ovšem netvořila vlákna tak snadno. Kyselina citrónová je mnohem komplikovanější organická sloučenina, protože obsahuje tři funkční karboxylové skupiny. Bylo tudíž potřeba k úspěšnému elektrostatickému zvlákňování použito více látek potlačujících hodnotu povrchového napětí v roztoku a vyšší intenzity elektrostatického pole. Z fotografie je viditelné, že kvalitní vrstva se vytvořila pouze v závislosti na počtu Taylorových kónusů. Reakce funkčních karboxylových skupin této kyseliny jsou dále popsány v kapitole o síťování dextranových vláken.

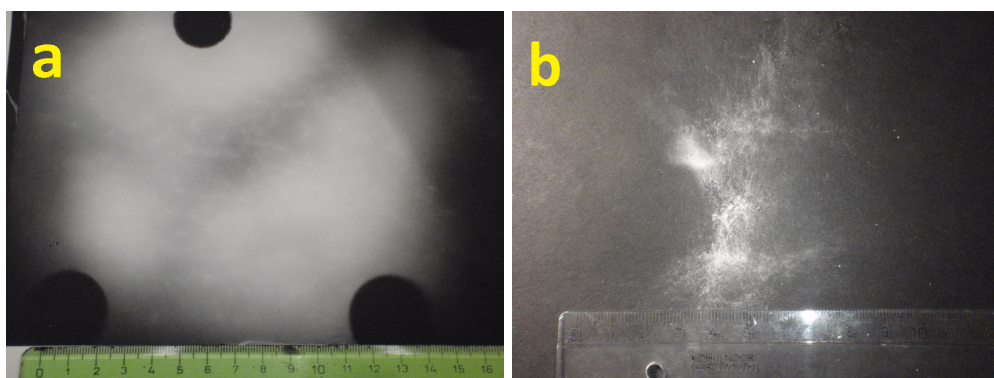


Obr. 20 Snímek výsledné vrstvy na papírovém podkladu vzorku č. 18 (a) a vzorku č. 36 (b)

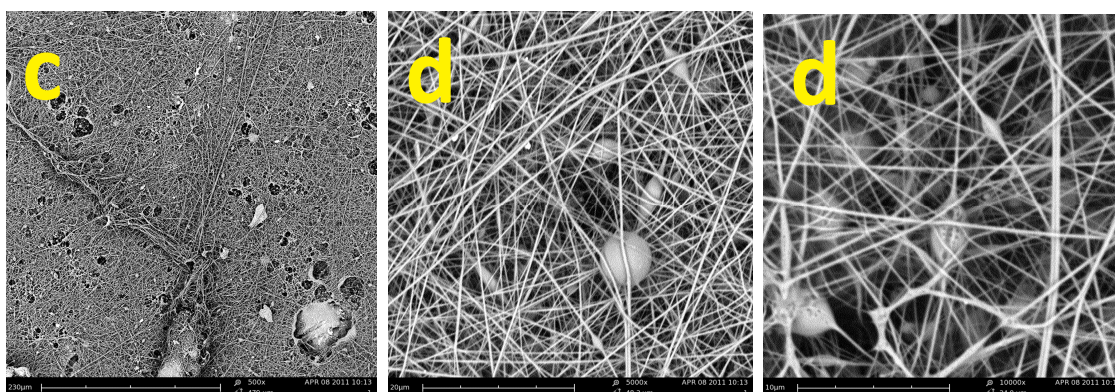


Obr. 21 Snímek SEM elektrostaticky zvlákněných vláken ze vzorku č. 18 s viditelnými defekty, zvětšeno 500x (c), 5 000x (d) a 10 000x (e)

Koncentrovaný roztok isopropanolu rozpouštěl dextran výborně a elektrostaticky zvlákňoval již při napětí 22 kV ve vzájemné vzdálenosti elektrod 12 cm. Povrchové napětí isopropanolu je 3,5x nižší než vody, očekávalo se tedy úspěšné tvoření vláken bez přidání povrchově aktivních látek. Polymerní roztok dextranu 40 % hm. a 10% isopropanolu opravdu dloužil vlákenné vrstvy, ovšem pouze bodově a s dlouhými časovými intervaly. Dodáním několika kapek povrchově aktivní látky triton došlo k výraznému zvýšení intenzity tvorby Taylorových kónusů, které se tvořily po celé ploše kapky polymeru. Zvlákňování bylo tak intenzivní, že bylo viditelné proti tmavému pozadí. Ačkoliv výsledná vrstva se vytvořila celoplošně, nebylo ji možné oddělit od podkladového materiálu v podobě papíru. Taylorových kónusů bylo mnoho a vlákna se rovnoměrně ukládaly na celou sběrací plochu včetně středu (zachyceno na snímku obr. 22a).

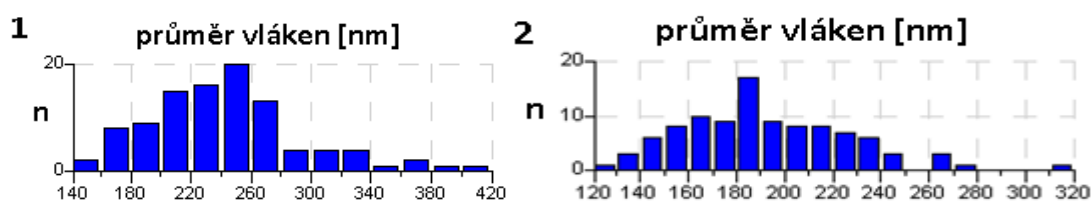


Obr. 22 Snímek výsledné vrstvy na papírovém podkladu vzorku č. 26 (a) a vzorku č. 39 (b)



Obr. 23 Snímek SEM elektrostaticky zvlákněných vláken ze vzorku č. 26 s defekty defektů, zvětšeno 500x (c), 5 000x (d) a 10 000x (e)

Distribuce vláken u vzorku č. 18 je převážně v rozmezí 200 – 280 nm s průměrnou hodnotou 243 ± 51 nm. Vzorek s obsahem isopropanolu č. 26 (snímek obr. 23) distribuuje menšími průměry vláken, s výrazným zastoupením v mezi 180 – 190 nm a průměrem 192 ± 34 nm. K zjištění průměrů vláken byl použit snímek ze SEM při zvětšení 5 000x a počítačový program *LuciaTM G* v laboratoři TU. Distribuce je graficky znázorněna grafy obr. 24.



Obr. 24 Grafy distribucí průměrů vláken vzorků č. 18 (1) a č. 26 (2),
počet měření $\Sigma_n = 100$

Vrstvy s kyselinou citrónovou obsahovaly nejvíce defektů. Rozměry těchto nežádoucích shluků na vláknech jsou 1 – 10 μm . Pro ověření kvality kyseliny citrónové byla připravena nová kyselina citrónová z krystalu a kvalitní vody v různých koncentracích. Degradovaná nebo znehodnocená kyselina citrónová by mohla ovlivnit tvorbu těchto defektů. Jelikož se ale objevovaly opět v dalším testování nových vzorků, je možné ze závěru vyloučit tuto domněnku. Množství defektů může ovlivnit i velikost makromolekuly navázaných molekul kyseliny na dextran. Okolní podmínky jako jsou teplota a relativní vlhkost mohly též sehrát důležitou roli. Při nižší teplotě je tvorba shluků pravděpodobnější.

Isopropanol je také vhodné rozpouštědlo pro tvorbu nanovláken z dextranu. Využívá své dvě hydroxylové skupiny k navázání hydroxylových skupin glukóz. Velmi důležitá je koncentrace, poněvadž při špatně zvolené hodnotě procentuálního zastoupení isopropanolu ve vodném roztoku dochází k vysrážení prášku dextranu a znehodnocení tohoto polymeru. Řešení této situace spočívá v přidání vody a použití magnetického míchadla k úplné tvorbě homogenního roztoku. Vliv sníženého povrchového napětí nehrál až takovou roli, jelikož k úspěšné tvorbě vlákenné vrstvy muselo být zapotřebí

povrchově aktivní látky. Samostaný isopropanol nemohl být ve vyšší koncentraci z důvodu vysrážení dextranu. Povrchově aktivní látka triton je tedy vhodným řešením.

Polymerní směsi dextranu s PEG a PEO nebyly úspěšné. Tyto roztoky byly charakteristické stalaktitovým jevem, kdy docházelo k ukládání silných vláken směrem od kolektoru k elektrodě s polymerem. Používaná aditiva a různé koncentrace nepřinesly zlepšení.

Vodný roztok ethanolu i přes nízké povrchové napětí není nejvhodnější rozpouštědlo pro proces elektrostatického zvlákňování. Limitní koncentrace ethanolu v roztoku je 40 %, kdy při překročení této hranice se dextran shlukuje. Ethanol jako jednoduchý alkohol pouze snížil povrchové napětí, ale pravděpodobně nedostatečně.

DMSO, i přes dobré výsledky v použité literatuře, se neověřilo jako vhodné rozpouštědlo a chemikálie vhodná k elektrostatickému zvlákňování. Roztoky ve všech kombinacích pouze stříkaly kapky na kolektor. Nedocházelo k dloužení polymeru. DMSO jako aditivum též nebylo platné. Vliv DMSO na polymerní roztok nebyl zaznamenán.

Zvlákňování polymerní směsi dextranu s kyselinou polyakrylovou 35 % hm. (PAA) bylo úspěšné. Nejdříve byla zvlákněna samotná PAA a posléze roztok s dextranem 20 % hm. a tritonem. Tento polymer obsahuje v monomeru jednu karboxylovou skupinu, která by mohla hydroxylové skupiny dextranu navázat esterovou vazbou a zamezit tak jeho rozpouštění. Vlákenná vrstva kyseliny polyakrylové a dextranu byla dále vystavena procesu síťování popsaného v další kapitole.

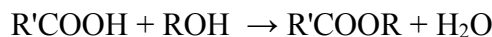
Veškeré vytvořené vlákenné vrstvy podléhaly rozpouštění okamžitě po kontaktu s hladinou vody. Nejlépe se osvědčil pro zvlákňování roztok dextranu s vodným isopropanolem nebo s kyselinou citrónovou při sníženém povrchovém napětí.

3.2 Sítování vrstvy nanovláken dextranu

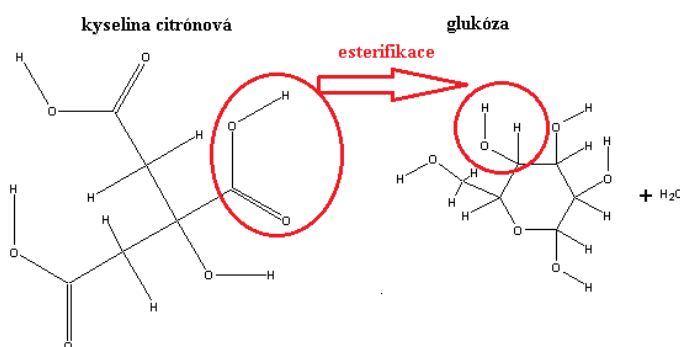
3.2.1 Metody sítování vláken a nanovlákených vrstev dextranu

Po vytvoření nanovlákněné vrstvy z dextranu ve vodě, vodných roztocích kyseliny citrónové, isopropanolu a kyselině polyakrylové bylo sekundárním cílem práce zamezit rozpustnosti těchto vrstev. Jelikož dextran obsahuje mnoho hydroxylových skupin, rozpustnost je velmi rychlá a začíná již při kontaktu se vzdušnou vlhkostí. Pro sítování je podmínkou obsah dvou a více funkčních skupin v sítovacím činidlu. Sítování v případě použití toxických látek typu glutaraldehyd či 2,2-dimethoxy-2-phenylacetophenone bylo popsáno již v předchozích kapitolách. V případě opakování popsaných metod není již možné využít dextran jako netoxický, k tělu příznivý biopolymer. Obecné metody sítování polysacharidů jsou popsány v předešlé kapitole 2.3.1 Princip a metody sítování.

Další možnost pro zajištění sítování dextranu je esterifikace přes hydroxylové skupiny. V této bakalářské práci byla zvolena jako vhodná karboxylová chemikálie kyselina citrónová a kyselina polyakrylová, ve kterých se zvýšením teploty v horkovzdušné komoře aktivuje esterifikační reakce mezi hydroxylem dextranu a karboxylové skupiny těchto kyselin. Esterifikace je ve všeobecné rovnici popsána níže.



R je uhlovodíkový zbytek na hydroxylu alkoholu a R' je uhlovodíkový zbytek na karboxylové skupině. Detail (ilustrace na obr. 23) - esterifikační reakce kyseliny citrónové a glukózy, která je základním stavebním prvkem dextranu.



Obr. 25 Ilustrace esterifikační reakce kyseliny citrónové a glukózy

Pokud by se podařilo proces esterifikace aktivovat, znamenalo by to síťování dextranu pomocí kovalentních vazeb. Tím by se stal dextran nerozpustný v závislosti na úspěšnosti počtu zesíťovaných alkoholových hydroxylů.

Využití kyseliny citrónové pro síťování polysacharidu chitosan bylo popsáno doc. Ing. L. Martinovou, CSc. a Ing. D. Lubasovou, PhD. [26], kde byla pozorována esterifikační reakce a úspěšné zesíťování směsi chitosanu, PEO a kyseliny citrónové. Optimální teplota se pohybovala v rozmezí 135 – 140 °C po dobu 30 min.

Esterifikační reakce mezi alkoholovými hydroxyly dextranu a karboxylovými skupinami kyselin citrónové i polyakrylové za zvýšené teploty neproběhly. Vlákná se při styku s vodou ihned rozpouštěla. Teplota v horkovzdušné komoře byla nastavena v rozmezí 100 - 140 °C po dobu 15 – 45 minut.

Kyselina polyakrylová 35 % hm. elektrostaticky zvlákňuje s přídavkem povrchově aktivní látky triton. Směs PAA, dextranu 20 % hm. a tritonu vytvořila slabou vrstvu, od které se očekávala esterifikace za zvýšené teploty jako v případě kyseliny citrónové. Tato metoda nebyla úspěšná, vlákna se rozpouštěla.

Známostou metodou síťování polyvinylalkoholových vláken je využití glyoxalu jako síťovacího činidla hydroxylových skupin. Pro dextran byl použit glyoxal 45 % hm. Množství glyoxalu bylo přímo úměrné hmotnosti sušiny dextranu v roztoku, a to v poměru 3 : 97 (glyoxal/dex). Jelikož glyoxal vyžaduje kyselé prostředí, bylo pH sníženo použitím vodného roztoku kyseliny fosforečné 85 % hm. zastoupenou v celkovém roztoku 1 % hm. Jako rozpouštědla byla použita voda a vodný roztok isopropanolu 10 % hm. s přidáním tritonu pro snížení povrchového napětí. Zvýšením teploty mělo dojít k tvorbě mezimolekulární 3D sítě. Vzhledem k rozpustnosti výsledných nanovláknenných vrstev obou vzorků nebyla tato metoda ověřena.

4 DISKUSE

Dextran se výborně rozpouští ve vodě. S rostoucí koncentrací dextranu v rozpouštědle či polymerní směsi se zvyšovala viskozita a hustota roztoku. Maximální únosná koncentrace dextranu je 60 % hm. ve vodném roztoku 10 % kyseliny citrónové. Rozpouštědlo isopropanol 10 % hm. disponuje limitní hodnotou rozpustnosti na 50 % hm. dextranu. Ve vodě je maximální koncentrace dextranu na hodnotě 70 % hm. Tyto závěry vyplývají z experimentálního měření, které je popsáno v kapitole 3.1.1. Z výsledků laboratorních pozorování vychází závěry, že látky obsahující více hydroxylových skupin mohou lépe a rychleji rozpouštět dextran.

Pozitivní vliv povrchově aktivních látek pro elektrostatické zvlákňování je popsán v předešlých kapitolách. V této bakalářské práci byl využíván ethanol a neionogenní tenzid Triton X-100 pro snížení povrchového napětí v roztoku polymeru. Změny v povrchovém napětí vody v závislosti na obsahu povrchově aktivní látky Triton X - 100 jsou zaznamenány v kapitole 3.1.2 (vodný roztok Triton X – 100 3 % hm. byl dále zapisován jako triton). Ethanol a triton velmi ovlivnily tvorbu vláken. Roztok ethanolu s vodou neměl takový efekt, protože nedokázal snížit povrchové napětí v takovém rozsahu jako triton, který mohl být aplikován v mnohem vyšších koncentracích. Ethanol již při 40% hm. ve vodě vysrážel dextran. Povrchově aktivní látky byly přidávány v rozmezí 20 – 50 $\mu\text{l/ml}$ v pauzách mezi jednotlivými kroky elektrostatického zvlákňování.

Z testovaných vzorků pro elektrostatické zvlákňování jasně vyplynulo, že nejlepší rozpouštědla pro dextran jsou voda, vodné roztoky kyseliny citrónové a isopropanolu. Nanovláknina se z roztoků tvořila pouze při sníženém povrchovém napětí. Povrchové napětí isopropanolu je $\sigma = 23 \cdot 10^{-3} \text{ N/m}$ a vodný roztok 10 % isopropanolu eviduje povrchové napětí cca $\sigma = 67,1 \cdot 10^{-3} \text{ N/m}$. Toto nepatrné snížení ve vodě jistě ovlivnilo také povrchové napětí směsi s dextranem a dokázalo ovlivnit polymer natolik, že drobné vláknenné vrstvy se tvořily i bez dalších aditiv (více v kapitole 3.1.3.2). Tvorba intenzivnější nanovláknenné vrstvy byla podmíněna přidavkem povrchově aktivní látky, která snížila povrchové napětí polymeru.

Zvolenou metodou pro tvorbu nanovláken pro tento doposud neprozkoumaný biopolymer bylo elektrostatické zvlákňování z tyčky o průměru 1 cm při vzájemné vzdálenosti elektrod 12 cm. Při úspěšné tvorbě nanovláknenné vrstvy na tomto zařízení je velká pravděpodobnost aplikovatelnosti dextranového roztoku kontinuální metodou Nanospider. Kapitola 3.1.3 detailně mapuje použité zařízení, metodiku i výsledky jednotlivých testů a vliv aditiv.

Výsledná vlákna byla měřena na programu LuciaTM G a jejich průměry se lišily dle použitého rozpouštědla. Ve všech případech bylo použito povrchově aktivní látky triton. Vyhodnocení nanovláknenných vrstev včetně obrazové dokumentace je detailně popsáno v kapitolách 3.1.3.1 a 3.1.3.2. Ze snímku SEM je viditelné, že v polymerní roztoku s přídavkem kyseliny octové nedochází k tvorbě defektů. Nejvyšší množství těchto dextranových vad bylo zaznamenáno u kyseliny citrónové. Roztoky dextranu ve vodě a isopropanolu obsahovaly méně defektů. Můžeme pouze diskutovat, zdali tento negativní děj byl ovlivněn výší pH, poněvadž u kyseliny octové bylo pH nejnižší - pH 2. Ostatní vzorky vykazovaly pH 3 – 7 dle použitých rozpouštědel a aditiv. Je zde ještě otázka, zdali kyselé prostředí nedegraduje polysacharidy, i když toto nebylo dokázáno na viskozimetru. Porovnávaly se stejně koncentrované vzorky dextranu ve vodě a kyselině octové. Výsledné hodnoty viskozity byly téměř shodné (čas odležení v 60 % kyselině octové a vody byl shodně 24 hod). Vliv silných kyselin na polysacharidy by měl být v budoucnu jasně vyšetřen. Enzymatické štěpení je popsáno v kapitole 2.1.1 .

Směsi s PEG a PEO nebyly úspěšně síťovány pomocí navýšení teploty aktivující mezimolekulární reakce. Již samotné zvlákňování nebylo intenzivní a směs tvořila nekvalitní vlákna. Tento jev by se dal přirovnat k stalaktitickému jevu, kdy dochází k ukládání vláken od shora dolů. Nepomohla ani změna koncentrací a použitých aditiv. Pravděpodobně nebyla nalezena optimální hodnota koncentrace PEO a PEG pro dobré rozpuštění dextranu. Využití PEO v kombinaci s polysacharidy popisují doc. Ing. L. Martinová, CSc. a Ing. D. Lubasová, PhD. v článku [26].

Při pokusu o tvorbu nerozpustných vláken zajištěnou esterifikačním síťováním ve směsi PAA a dextranu byl naopak sledován obsah dextranových částecek na vláknech a v mezivláknenných prostorech. Ve vzorku s PAA hraje pravděpodobně důvod tvorby defektů příliš vysoká koncentrace kyseliny polyakrylové, a tedy neúplné rozpustnosti dextranu ve směsi.

Různé koncentrace dextranu, kyseliny citrónové, kyseliny polyakrylové, teplota ani čas v horkovzdušné komoře nikterak neaktivovaly esterifikační reakci, čímž by zamezily nežádoucímu rozpouštění dextranových vláken. Síťování je blíže popsáno v kapitole 3.2.1 . V experimentální části této BP nebylo objeveno vhodné netoxické síťovací činidlo.

V případě, že se vlákna z plochy tyčky netvořila, tak pravděpodobně nebyla zvolena vhodná kombinace aditiv a koncentrace rozpouštědel. Okolní podmínky mimo laboratoř ovlivňují zvlákňování. Vzdušná vlhkost nad 70 % má negativní vliv na výsledná nanovlákna. S vyšší vlhkostí vzrůstá poréznost vláken. Použití digestoře při tvorbě elektrostatického pole více či méně víří vzduch v prostoru výrobního zařízení, a tak i přes malý poryv vzduchu může mít vliv na ukládání vláken na kolektor. Během testování byla proto raději vypnuta a odsávání bylo zapnuto až po skončení zvlákňování. Teplota, která není v laboratoři konstantní, mohla při nízkých hodnotách mít také vliv na případný neúspěch či špatný přenos nábojů mezi elektrodami.

5 ZÁVĚR

Dextran je biokompatibilní materiál, který nabízí možnosti nového využití v podobě textilního nanovláknenného materiálu s ovlivnitelnou dobou rozkladu. Pro širší rozvoj aplikace dextranových nanovláken je podmínkou analyzovat a upřesnit podmínky vedoucí k využití kontinuálního elektrostatického zvlákňování metodou Nanospider pro směsi s obsahem klinického dextranu.

V této bakalářské práci byly vyšetřeny vlastnosti roztoků dextranu s různými koncentracemi a aditivy, ale také vlastnosti výsledných nanovláknenných vrstev vyrobených metodou elektrostatického zvlákňování z plochy dle různých kombinací použitých chemikálií. Finální vrstvy mají kvalitní strukturu a průměr vláken v mezích 192 - 374 nm je závislý na použitém rozpouštědle, aditivu a okolních podmínkách.

Teoretická část popisuje strukturu a vlastnosti polysacharidů se zaměřením na neprozkoumaný glukan dextran – jeho vlastnosti a využití tohoto biodegradabilního polymeru v praxi. Elektrostatické zvlákňování z plochy, které bylo zvoleno jakožto metoda tvorby dextranových nanovláken, je detailně i s obrázky vysvětleno v teoretické i experimentální části této bakalářské práce.

V experimentální části je popsána rozpustnost a tvorba dextranových nanovláken metodou zvlákňování z plochy. Vybrané kapitoly se zabývají též úpravou povrchového napětí pomocí povrchově aktivní látky Triton X-100, měřením viskozity dextranového vodného roztoku a síťováním hydroxylových skupin dextranu esterifikací. Vše je doplněné o přílohy s obrazovou dokumentací, grafickými návrhy a snímky ze SEM. Základní shrnutí výsledků je vždy uvedené v přiřazené kapitole a také v závěrečné diskusi.

Bakalářská práce experimentálně dokázala, že tvorba nanovláknenných vrstev z polysacharidu dextran je reálná. Plynule tak navazuje na teoretickou část, kde je v rešerši vše popsáno i s odkazy na použitou literaturu (citována dle normy ČSN ISO 690:2010).

Klinický polysacharid dextran má veliký potenciál, aby se jeho nanovláknena stala v budoucnosti součástí využívaných výrobků v medicíně a farmaceutickém průmyslu.

6 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] KUMBAR, S.G., et al. Biomed. Mater. 3. *Electrospun nanofiber scaffolds: engineering soft tissues*. 2008, 10.1088/1748-6041/3/3/034002, s. 1-15.
- [2] DUMITRIU, S. *Polymeric biomaterials*. Second edition, Revised and Expanded. USA : Marcel Dekker, Inc., 2002.
- [3] QADER, S.A.U, et al. Turkish Journal of Biochemistry. *Production of Dextran by Newly Isolated Strains of Leuconostoc mesenteroides PCSIR-4 and PCSIR-9*. 2005, 31, s. 21-26. ISSN 1303–829X.
- [4] PATIL, S.; JADGE , D.R. Crosslinking Of Polysaccharides: Methods And Applications. *Polysaccharides are polymers of simple sugar building blocks. Crosslinked polysaccharides are having many applications in pharmaceuticals*. [online]. 2008, , [vid. 2011-04-14]. Dostupný z WWW: <<http://www.pharmainfo.net/reviews/crosslinking-polysaccharides-methods-and-applications>>.
- [5] HENNINK, W.E., et al. International Journal of Pharmaceutics. *Biodegradable dextran hydrogels crosslinked by stereocomplex formation for the controlled release of pharmaceutical proteins*. 2004, 10.1016/j.ijpharm.2003.02.002, s. 99-104.
- [6] NAESSENS, M., et al. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. *Review Leuconostoc dextranase and dextran: production, properties and applications*. 2005, s. 846-860, 10.1002/jctb.1322.
- [7] FRENOT, A.; CHRONAKIS, I.S. Current Opinion in Colloid and Interface Science 8. *Polymer nanofibers assembled by electrospinning*. 2003, 64-75, s. 10.1016/S1359-0294(03)00004-9.
- [8] RITCHAROEN, W., et al. Cellulose. *Electrospun dextran fibrous membranes*. 2008, 10.1007/s10570-008-9199-3, s. 435-444.
- [9] JIMÉNEZ, W.R. Biotecnología Aplicada. *The dextranase along sugar-making industry*. 2005, 22, s. 20-27.

- [10] CAN, H.K., et al. Carbohydrate Polymers. *Effect of functional crosslinking agents on preparation and swelling properties of dextran hydrogels*. 2004, 10.1016/j.carbpol.2004.08.025, s. 51-56.
- [11] JIANG, H., et al. Biomacromolecules. *Optimization and Characterization of Dextran Membranes Prepared by Electrospinning* [online]. 2004, 10.1021/bm034345w, [vid. 2011-04-14]. Dostupný z WWW: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bm034345w>>.
- [12] MLEZIVA, J. *Polymery – struktura, vlastnosti a použití*. Česká republika : Sobotáles, 1993.
- [13] IMREN, D., et al. HACETTEPE JOURNAL OF BIOLOGY AND CHEMISTRY. *Colon-Specific Delivery of IgG from Highly Swellable Dextran Hydrogels: In-Vitro Study*. 2007, 35(3), s. 163-171.
- [14] CORTESI, R., et al. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. *Dextran cross-linked gelatin microspheres as a drug delivery system*. 1999, 10.1016/S0939-6411(98)00076-9, s. 153-160.
- [15] *Anamneza.cz* [online]. 1999 [vid. 2011-05-02]. DEXTRAN 6% ve fyziologickém roztoku INFUSIA. Dostupné z WWW: <<http://www.anamneza.cz/moduly/lek.php?id=1857>>.
- [16] *Zdravi.foodnet.cz* [online]. 2009 [vid. 2011-04-14]. Z čeho se skládají potraviny. Dostupné z WWW: <<http://zdravi.foodnet.cz/cze/pages/z-ceho-se-skladaji-potraviny>>.
- [17] USA. Dextran glue bone adhesives. In *Unites States Patent Office*. 1958, US2850398, s. 106-129.
- [18] *Sigmaaldrich.com* [online]. 2011 [vid. 2011-04-14]. Dextranase and Dextrans. Dostupné z WWW: <<http://www.sigmaaldrich.com/sigma-aldrich/areas-of-interest/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/learning-center/carbohydrate-analysis/carbohydrate-analysis-ii.html>>.
- [19] *Sigmaaldrich.com* [online]. 2011 [vid. 2011-04-14]. D5751 – Product Information Sheet (57 KB). Dostupné z WWW:

<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/Lookup.do?D7=0&N17=2&N3=mode%20matchpartialmax&N5=All&N4=d5751&N25=0&N1=S_ID&ST=RS&QS=ON&F=TD>.

[20] STANCOVÁ, Vlasta. *Inovace.cz* [online]. 2010 [vid. 2011-04-14]. Chutnější a zdravější chléb bez aditiv. Dostupné z WWW: <<http://www.inovace.cz/for-life/zdravi-a-zivotni-styl/clanek/chutnejsi-a-zdravejsi-chleb-bez-aditiv/>>.

[21] *Answers.com* [online]. [vid. 2011-04-14]. Oxford Dictionary of Chemistry: glycosidic bond. Dostupné z WWW: <<http://www.answers.com/topic/glycosidic-bond-1>>.

[22] anonym, *Sacharidy*, s. 1-6. Dostupný také z WWW: <<http://www.gvi.cz/files/chemie/sacharidy.pdf>>.

[23] anonym, MIKROBNÍ TECHNOLOGIE II. *Výroba dextranu*. , , s. 1-20. Dostupný také z WWW: <eso.vscht.cz/cache_data/1172/www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/mikroII.pdf>.

[24] *Dextran.net* [online]. 2010 [vid. 2011-04-14]. Dostupné z WWW: <www.dextran.net>.

[25] Dextran. In *Wikipedia : the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida) : Wikipedia Foundation, 25.3.2008, last modified on 11.4.2011 [vid. 2011-05-02]. Dostupné z WWW: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Dextran>>.

[26] MARTINOVÁ, Lenka ; LUBASOVÁ, Daniela . RJTA. *Electrospun Chitosan Based Nanofibers*. 2008, Vol. 12 No. 2, s. 72-79.

[27] RAMAKRISHNA, S., et al. *An Introduction to Electrtospinning and Nanofibers* . USA : World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2005.